Lane Medical Library
193

Aus dem Veterinärhygienischen und Tierseuchen-Institut
der Landes-Universität Giessen.
Direktor: Professor Dr. W. Zwick.

Liquoruntersuchungen bei künstlich mit dem Virus der Bornaschen Krankheit infizierten Kaninchen unter besonderer Berücksichtigung des Befundes bei gesunden und spontan erkrankten Kaninchen.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

der

Veterinär-Medizinischen Fakultät

der Hessischen Ludwigs-Universität zu Giessen.

Vorgelegt von

Süleyman Zeki

Tierarzt aus Instanbul.

1934

Buchdruckerei Karl Zeeb, Dornstetten (württbg. Schwarzwald)

Aus dem Veterinärhygienischen und Tierseuchen-Institut
der Landes-Universität Giessen.
Direktor: Professor Dr. W. Zwick.

Liquoruntersuchungen bei künstlich mit dem Virus der Bornaschen Krankheit infizierten Kaninchen unter besonderer Berücksichtigung des Befundes bei gesunden und spontan erkrankten Kaninchen.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

der

Veterinär-Medizinischen Fakultät

der Hessischen Ludwigs-Universität zu Giessen.

Vorgelegt von

Süleyman Zeki

Tierarzt aus Instanbul.

1934

Gedruckt mit Genehmigung der vet. med. Fakultät der Universität Gießen.
Referent: Professor Dr. W. Zwick.
Gießen, den 8. 11. 1934.

Inhaltsangabe.

A. Einleitung. Seite 5

B. Ueber die Beziehung von Liquor und Encephalitis bei der Bornaschen Krankheit (B.K.) und den der B.K. verwandten infektiösen Entzündungen des Zentralnervensystems (Z.N.S.) mit Berücksichtigung der experimentellen und natürlichen Encephalitiden des Kaninchens . . . . . „ 6

C. Ueber die bisher bei der B.K. vorliegenden Liquorbefunde . . . . . „ 12

D. Eigene Untersuchungen . . . . . „ 13

I. Untersuchungsplan . . . . . „ 13

II. Untersuchungsmethoden . . . . . „ 14

1. Entnahme des Liquors nach Plaut . . . „ 14

2. Physikalisch-chemische Methoden. (Bestimmung des Wasserstoffexponenten (pH-Zahl) . . „ 15

3. Mikroskopische Methoden . . . . .

a) Zählung der Liquorzellen nach Fuchs-Rosenthal „ 16

b) Färbung der Liquorzellen (Methylviolettlösung nach Jakobsthal und May-Grünwald-Giemsa-Farblösung nach Szésci) . . „ 17

4. Chemische Methoden . . . . . „ 18

a) Qualitative Globulinbestimmung . . . „ 18

α) Phase I nach Nonne-Appelt . .

β) Pandysche Karbolsäurereaktion nach Zaloziecki . . . . . .

γ) Weichbrodtsche Sublimatreaktion .

b) Quantitative Gesamteiweißbestimmung (Salpetersäureschichtprobe nach Roberts-Stolnikoff-Brandberg-Zaloziecki). . „ 19

5. Kolloidchemische Methode . . . . . (Mastix-Lumbotestreaktion nach Emanuel-Rosenfeld). . . . . „ 20

III. Uebersicht über die durchgeführten Untersuchungen „ 22

IV. Liquorbefunde bei gesunden und kranken, nicht mit dem Virus der B.K. infizierten Kaninchen, ferner bei solchen, die mit dem Virus der B.K. infiziert wurden . . . . . „ 23

1. Liquorbefunde bei gesunden Kaninchen . Seite 24
2. Liquorbefunde bei gesunden Kaninchen, die wiederholt in kurzen Abständen punktiert wurden . . . . . „ 25
3. Liquorbefunde bei einem Kaninchen, das infolge der Ohrräude schiefe Kopfhaltung zeigte . „ 25
4. Liquorbefunde bei 5 an Kokzidiose erkrankten Kaninchen . . . . . „ 26
5. Liquorbefunde bei intrazerebral-infizierten Kaninchen (Virus der B.K.) . . . . „ 27
a) Makroskopische und physikalisch-chemische Untersuchung des Liquors . „ 28
b) Mikroskopische Untersuchung des Liquors „ 28
c) Chemische Untersuchung des Liquors . „ 32
d) Kolloidchemische Untersuchung des Liquors „ 33
6. Liquorbefunde bei 14 Kaninchen, die zur Ermittlung des zeitlichen Eintritts der Liquorveränderungen nach der Impfung intrazerebral mit dem Virus der B.K. geimpft worden waren. „ 34
7. Liquorbefunde bei Kaninchen, die zur Ermittlung der Ursachen und der Natur der gleich nach der intrazerebralen Impfung aufgetretenen Liquorveränderungen geimpft worden waren . . . . . „ 38
a) 2 Kaninchen wurden intrazerebral mit 0,3 ccm Normalgehirn (in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt) geimpft . . „ 38
b) 3 Kaninchen wurden intrazerebral nur mit 0,3 cmm physiologischer Kochsalzlösung geimpft . . . . . „ 40
c) bei 2 Kaninchen wurde, wie für die intrazerebrale Impfung nur das Schädeldach durchbohrt und mit der sterilen Nadel 3—5 mm ins Großhirn gestochen . . „ 41
8. Untersuchungen des Liquors bei intranasal infizierten Kaninchen . . . . . „ 42
9. Pathologisch-histologische Befunde bei Gehirnschnitten von 129 an B.K. (intrazerebrale, intramuskuläre und intranasale Infektion) verendeten Kaninchen . . . . . „ 44

E. Kritische Besprechung der Gesamtergebnisse . . „ 45

F. Schlußsätze . . . . . „ 48

Schrifttum . . . . . „ 50

A. Einleitung.

Seit der Einführung der Lumbalpunktion in die klinische Medizin durch Quinke (1891) hat die physikalische, chemische, zytologische, bakteriologische und biologische Untersuchung der Zerebrospinalflüssigkeit in der Menschenheilkunde für diagnostische Zwecke bei sämtlichen Erkrankungen des Zentralnervensystem (Z.N.S.) von Jahr zu Jahr an Bedeutung gewonnen.

Die Liquoruntersuchung hat sich besonders bei der Diagnose, Behandlung und Prognose der luetischen Erkrankungen des Z.N.S. als sehr wertvoll erwiesen (Paralyse, Lues cerebri und Tabes). Auch ist sie bei der Differentialdiagnose der infektiösen nichtluetischen Meningitiden (eitrige, tuberkulöse Meningitis und seröse Meningitis), Hirntumoren und Hirnblutungen unentbehrlich geworden.

In neuester Zeit hat die systematische Untersuchung des Liquors für die pathologische Anatomie und für die Klinik der Poliomyelitis, epidemischen Encephalitis und Lyssa wertvolle Aufklärungen gegeben (Rehm 1934, Pette 1932, Löwenberg).

Nachdem in Deutschland durch die von Plaut (1921) ausgearbeitete Technik der Suboccipitalpunktion die Liquorgewinnung am lebenden Kaninchen sehr leicht und gefahrlos gemacht worden war, wurden unsere Kenntnisse durch experimentelle Arbeiten beim Kaninchen über die Pathologie des Liquors bei den verschiedenen Erkrankungen des Z.N.S. wesentlich bereichert. (Experimentelle Syphilis: Plaut-Mulzer-Neubürger, 1921-1923; Spontane Kaninchen-Encephalitis: Illert und Jahnel 1924; Herpes-Encephalitis: Pette 1931 und Spirochätose des Kaninchens: Fried und Orlow 1926).

Die Liquoruntersuchung hat auf tierärztlichem Gebiet noch keine größere Bedeutung erlangt, obwohl die Erfahrungen bei der Lumbalanästhesie der Tiere gezeigt haben, daß der Vornahme einer Lumbalpunktion bei Tieren technische Hindernisse nicht im Wege stehen (Pfeiffer 1934). Ellinger (1927) ist zwar der Meinung, daß die Suboccipitalpunktion in der Praxis möglich ist, jedoch sind die Zweifel in dieser Richtung berechtigt. Zunächst ist es daher noch fraglich, ob die Suboccipitalpunktion in die tierärztliche Praxis Eingang finden wird.

In den tierärztlichen Lehrbüchern und im Schrifttum findet man sehr wenig über die Eigenschaften des Liquors bei gesunden und kranken Tieren. Hier und da beschriebene Liquorbefunde stellen keine eingehenden systematischen Untersuchungen dar.

Nur Hunde, Katzen, Kaninchen und Affen sind als Versuchstiere in der Menschenheilkunde seit der Einführung der

Suboccipitalpunktion durch die Amerikaner Dixon und Halliburton (1913) für die Liquoruntersuchung herangezogen worden.

Die vorliegenden Untersuchungen haben sich zur Aufgabe gestellt, bei Kaninchen in Fällen von künstlich erzeugter Bornascher Krankheit (B.K.) planmäßige Untersuchungen des Liquors vorzunehmen.

B. Ueber die Beziehungen von Liquor und Encephalitis bei der B.K. und den der B.K. verwandten infektiösen nichteitrigen Entzündungen des Z.N.S. mit Berücksichtigung der experimentellen und natürlichen Encephalitiden des Kaninchens

(mit 7 Tabellen und 3 Kurven).

Die Physiologie und Pathologie der Cerebrospinalflüssigkeit, insbesondere die Ausarbeitung zuverlässiger Untersuchungsmethoden, beschäftigen die beteiligten Kreise seit 40 Jahren lebhaft; ein ausgedehntes Schrifttum hat sich angesammelt, das hier im Rahmen meiner Aufgabe nicht vollständig berücksichtigt werden kann, zumal da es sich fast ausschließlich auf den Menschen bezieht.

Zum besseren Verständnis meiner Arbeit ist es jedoch notwendig, zuerst eine kurze Uebersicht über die Kenntnisse von der normalen und pathologischen Cerebrospinalflüssigkeit und der pathologischen Anatomie der B.K. sowie verwandter Krankheiten mit Berücksichtigung der vergleichenden Liquoruntersuchungen zu geben.

Um die Eigenart des Liquors und die einschlägigen Untersuchungsmethoden verstehen zu können, muß man vor allem den Ort der Entstehung des Liquors kennen.

Der gesamte Liquor befindet sich in einer Liquorhöhle (Ventrikel des Gehirns und Subarachnoidealraum), die, abgesehen von dem Ventrikelependym, allseitig von Meningen und adventitiellen Scheiden von Hirngefäßen umschlossen wird (Kommunikation des Subarachnoidealraumes mit dem Virchow-Robinschen vaskulären Räumen: (Rauber-Kopsch, 1923; Plaut 1927). Alle von außen in diese Höhle gelangenden Stoffe müssen daher irgendwo und irgendwie dieses die Höhle umschließende Ventrikelenpendym, die Meningen, oder die adventitiellen Scheiden der Hirngefäße durchdringen. Da das Ventrikelependym als Produktionsstätte des Liquors kaum in Frage kommt, werden der Plexus chorioideus, die Meningen und die Hirngefässe in der Hauptsache für die Entstehung des Liquors verantwortlich gemacht (Walter 1929; Kafka 1926).

Zuerst haben französische Forscher den Begriff der „Permeabilität der Meningen“ (perméabilité meningée) in die Liquorforschung eingeführt. Später wurden durch einige Autoren überdies neue Bezeichnungen zur Kennzeichnung des hier vorliegenden Fragenkomplexes gewählt: Ekto-mesodermale-Schranke (Monakow), barriére hémato-encephalique (L. Stern), Blut-Liquorschranke usw.

K. Walter (1929) hat sich in einer Monographie eingehend mit dieser Frage beschäftigt. Danach bestehen im Z.N.S. folgende Austauschmöglichkeiten:

1. zwischen Blut und Liquor (Blut-Liquorschranke),
2. zwischen Liquor und Z.N.S. (Hirn-Liquorschranke),
3. zwischen Blut und Z.N.S. (Blut-Hirnschranke).

Walter zieht aus allen bisherigen Untersuchungen folgende Schlüsse:

Der Liquor entsteht a) im Bereich des Plexus chorioideus b) an der gesamten Innenfläche der Leptomeningen.

2. Dieser im engeren Sinne als Liquor zu bezeichnenden Flüssigkeit sind Teile der efferenten Hirnlymphe, die ihr Lymphozyten, Eiweiß, Kolloide und vielleicht auch andere, durch die Plexus und die Meningen nicht diffundierende Substanzen zuführt, beigemischt.

Walter betont, „daß die Blut-Liquorschranke naturgemäß nur von den unter 1 und 2 aufgezählten „Strukturen“ gebildet wird, während der aus dem Gehirn stammende Anteil der Cerebrospinalflüssigkeit die Hirn-Liquorschranke durchdringen muß, die vermutlich mit der Membrana gliae superficialis und perivaskularis und dem ihr anliegenden Piaendothel iddentisch ist. Demgegenüber ist die „Blut-Liquorschranke“ im Bereich der Hirnkapillaren zu suchen.“

Die bisherigen Erfahrungen zeigen eindeutig, daß die Blut-Liquorschranke (Plexus chorioideus, Meningen und Hirnkapillaren) bei der Entstehung des normalen und pathologischen Liquors die Hauptrolle spielt. Da die Permeabilität der Blut-Liquorschranke maßgebend für die Zusammensetzung des normalen Liquors ist, verursacht jede Störung dieser Permeabilität eine Veränderung des Liquors.

Kafka betont auf Grund seiner langjährigen Erfahrungen ausdrücklich, daß die entzündlichen Veränderungen an den Meningen bei Erkrankungen des Z.N.S. ausschlaggebend sind für die Befunde am Liquor.

Wie man sieht, geht die Pathologie des Liquors mit der Pathologie des Z.N.S. parallel. Deshalb möchte ich auch die pathologisch-histologischen Veränderungen bei der B.K. und ihrer Verwandtschaftsgruppe, sowie die Liquorbefunde bei diesen Krankheiten kurz beschreiben.

Die Joestschen Untersuchungen (1926) haben den Anlaß gegeben die akut infektiösen, nicht-eitrigen Erkrankungen des

Z.N.S. hauptsächlich in 2 Gruppen zu teilen und zwar nach Pette (1929) in:

1. Erkrankungen vornehmlich der grauen Substanz,
2. Erkrankungen vornehmlich der weißen Substanz.

Zum ersten „Formenkreise" rechnet Pette die Herpesencephalitis des Kaninchens, die epidemische Encephalitis, die Poliomyelitis, die Lyssa und die B.K.

Diese Einteilung wurde inzwischen von Levaditi in den wesentlichen Punkten bestätigt.

Nach Seifried und Spatz (1932) ist die Ähnlichkeit der vier letztgenannten Krankheiten (die Herpesencephalitis weicht nach diesen Autoren erheblich von den anderen ab, so groß, „daß es vom anatomischen Standpunkt aus angebracht ist, diese 4 Krankheiten in einer besonderen Sammelgruppe zu vereinigen."

Da bei der Entstehung des normalen, besonders aber des pathologischen Liquors nur der Blutgefäßapparat des Gehirns und der Meningen hauptsächlich in Frage kommt, müssen wir unsere ganze Aufmerksamkeit bei dem Studium der pathologisch-histologischen Vorgänge auf die entzündliche Reaktion des mesodermalen Gewebes lenken. Ich lasse deshalb die entzündliche Reaktion des ektodermalen Gewebes in Form der Degeneration von Ganglienzellen und die bald mehr, bald weniger hochgradige Proliferation der Glia aus meiner kurzen Betrachtung.

Die entzündliche Reaktion des mesodermalen Gewebes des Gehirns tritt bei diesen 4 verwandten Polioencephalitiden durch vaskuläre und perivaskuläre Zellinfiltrate zweifellos als charakteristisches Merkmal in Erscheinung. Die vaskulären und perivaskulären Lymphräume sind mit Rundzellen vollgepfropft, die häufig einen kontinuierlichen Mantel von erheblicher Breite um das Gefäßlumen bilden. Das Lumen ist meist sehr weit und mit den Blutzellen ausgefüllt. Die Infiltratzellen dringen auch da und dort ins Gehirn ein und bilden Gewebsinfiltrate.

Die meningeale Infiltration ist dagegen bei einzelnen Krankheiten sehr wechselnd. Sie ist im allgemeinen um so stärker, je ausgedehnter der parenchymatöse Prozeß ist und vor allem, je näher er an die Meningen heranreicht. Entsprechend ist die Meningitis am schwersten bei der Poliomyelitis, während sie bei der epidemischen Encephalitis wie bei der Lyssa (Pette 1932) nur sehr gering ist. Seifried (1932) betont ausdrücklich, daß bei der B.K. die Meningen entweder nicht oder nur auffallend geringgradig (sekundär) ergriffen sind.

Nach Joest (1926) besteht bei der B.K. nur eine leichte Meningitis von mononukleärem Typus, die aber gegenüber den entzündlichen Veränderungen der nervösen Substanz eine nur untergeordnete Rolle spielt.

Demnach handelt es sich bei diesen Krankheiten stets um eine eigentliche Polioencephalitis oder Poliomyelitis, nicht um eine Meningo-encephalitis (Seifried und Spatz 1932).

Die Infiltratzellen sind in ihrer Zusammensetzung abhängig vom jeweiligen Stadium der Krankheit. In der Hauptsache finden sich Lymphozyten. Daneben sind (weniger zahlreich) Plasmazellen und grössere, mononukleäre Zellen mit relativ chromatinarmem Kern und einem deutlich wabig gebauten Zelleib (Polyblasten Monakows) vertreten. Bei der Poliomyelitis fehlen im ersten Stadium der Krankheit niemals Leukozyten neben den obengenannten Infiltratzellen. Bei der akuten epidemischen Encephalitis und bei der Lyssa sind auch gelegentlich, dagegen bei der B.K. niemals mit Sicherheit polymorphkernige Leukozyten festgestellt worden (Seifried 1932; Pette 1932.)

Was nun den Liquor bei diesen Poliomyelitiden anbetrifft, so zeigen die systematisch durchgeführten Untersuchungen, dem pathologisch-histologischen Bild des mesodermalen Gewebes entsprechend, eine Veränderung des Liquors im Sinne einer Zell-Globulin- und Gesamteiweißvermehrung.

Bei der Poliomyelitis zeigt die Zellzahl des Liquors eine starke Vermehrung, die der Stärke der meningealen Affektion entspricht. In den schwersten Fällen gehen die Zellwerte bis über 1000 Zellen im cmm hinaus. Dabei beträgt in den ersten Tagen die Menge der polynukleären Zellen (Leukozyten) bis zu 75%, um dann im Laufe der ersten 2 Krankheitswochen auf 0% abzusinken. Später beherrschen also die Lymphozyten das Zellbild.

Der Gesamteiweißgehalt ist vermehrt. Die größten Werte sind ebenso wie die Zellwerte im febrilen Stadium vorhanden (0,4 und 0,6%). Die Globulinwerte (Pandy) sind mit wenigen Ausnahmen erhöht. Die Goldsolkurve zeigt im febrilen Stadium eine kleine Lueszacke, die während des postfebrilen Stadiums nach rechts abrückt.

Bei der epidemischen Encephalitis gehen die Zellwerte nur ausnahmsweise über 100 im cmm hinaus (Pette).

Daß auch bei der Lyssa des Menschen regelmäßig eine Pleozytose des Liquors besteht, haben neuere Untersuchungen von Löwenberg (1926) gelehrt. Pette (1929) hat den gleichen Befund tierexperimentell erhoben.

Joest (1911—1926) berichtet in seinen Arbeiten, daß bei der B.K. eine leichte Lymphozytose des Liquors vorkomme, sonst aber der Liquor nur unwesentlich verändert sei.

Da ich meine Liquoruntersuchungen bei der B.K. an künstlich infizierten Kaninchen angestellt habe, möchte ich kurz über die Pathologie des Z.N.S. und des Liquors bei den spontanen und künstlich erzeugten encephalitischen Erkrankungen des Kaninchens im Ver-

gleich mit der Pathologie der durch das Borna Virus hervorgerufenen entzündlichen Reaktion des mesodermalen Gewebes beschreiben.

Für die vergleichende Betrachtung kommen besonders die Herpes-Encephalitis, die Lues-Encephalitis, die Spontan-Encephalitis und die Kokzidiose-Encephalitis des Kaninchens in Frage. Bei diesen Encephalitiden liegen schon, außer bei der Kokzidioseencephalitis, Liquorbefunde vor.

Nach gelungener Uebertragung der B.K. vom Pferd aufs Kaninchen durch Zwick und Seifried (1924) wurde beim Kaninchen eine mit der Encephalitis des Pferdes indentische Encephalitis lymphocytaria vascularis et perivaskularis und in der Mehrzahl der Fälle eine geringgradige Meningitis festgestellt (Zwick-Seifried-Witte 1926).

Bei der Herpesencephalitis des Kaninchens ist auch eine entzündliche Reaktion des mesodermalen Gewebes des Gehirns und der Meningen in Form einer vaskulären und perivaskulären Zellinfiltration nachgewiesen worden. Die Infiltratzellen bestehen in der Hauptsache aus lymphozytären Elementen, daneben sind am 1. bis 3. Krankheitstage auch neutrophile Leukozyten vorübergehend vertreten (Pette 1930-1931).

Die encephalitische Reaktion bei der künstlich übertragenen Syphilis (Hodenimpfung) des Kaninchens charakterisiert sich auch durch vaskuläre und perivaskuläre Zellinfiltrate im Gehirn und in den Meningen. Die Meningitis steht allerdings im Vordergrund (Meningoencephalitis). Die Infiltratzellen bestehen fast ausschließlich aus Lymphozyten und Plasmazellen, die anscheinend noch reichlicher sind als die Lymphozyten (Steiner 1913, Plaut-Mulzer und Neubürger 1922).

Das pathologisch-histologische Bild bei der Spontanencephalitis des Kaninchens zeigt die charakteristische entzündliche Reaktion des mesodermalen Gewebes in Form der vaskulären und perivaskulären Rundzelleninfiltrate (adventitielle lymphozytäre Elemente) im Gehirn und in den Meningen (Seifried 1927). Bei Allgemeinerkrankungen (Hämorrhagische Septikämie, Kokzidiose des Kaninchens und Schnupfen) wird ebenfalls eine (sekundäre) entzündliche Reaktion des Z.N.S. ausgelöst. Wegen ihrer großen Verbreitung und Häufigkeit nimmt die Kokzidiose die erste Stelle ein (nach Sustmann umfaßt die Kokzidiose 85% aller Kaninchenseuchen) (B. Ostertag 1931). Nach Galli und Valeri (1915) sind die Meningen bei der Kokzidioseencephalitis mit Rundzellen infiltriert. Die Gehirn- und Rückenmarkgefäße sind stark erweitert und zum Teil von Infiltratmäntel umgeben. Dem Charakter der zugrunde liegenden mesodermalen Entzündungsreaktion des Z.N.S. nach besteht jeweils zwischen den natürlichen und künstlich erzeugten Encephalitiden des Kaninchens offensichtlich eine völlige Übereinstimmung.

Was nun die Veränderung des Liquors im einzelnen bei der Herpes-Encephalitis, der experimentellen Syphilis und der Spontan-Encephalitis des Kaninchens betrifft, so zeigen uns die heute vorliegenden Liquorbefunde eindeutig, daß der Liquor im Sinne des Zell-, Gesamteiweiß- und Globulingehaltes sowie auch des kolloidchemischen Verhaltens verändert ist.

Nach Pette (1931) setzt die Pleozytose bei der Herpesencephalitis im allgemeinen sehr akut ein, geht alsdann aber, wenn das Tier nicht vorher verendet, allmählich wieder zurück. In den ersten Tagen findet sich ein hoher Prozentsatz von Leukozyten 25%; daneben sind regelmäßig große und kleine Lymphozyten vorhanden. Das Zellbild ändert sich von Tag zu Tag, die Leukozytose klingt ab und schließlich werden nur noch Lymphozyten gefunden. Der Gesamteiweißgehalt des Liquors ist auch im ersten Stadium vermehrt. Die Mastixkurve gibt wenig charakteristische Bilder.

Plaut-Mulzer (1921-1922) haben bei syphilitischen Kaninchen im Liquor eine Zell-Gesamteiweiß- und Globulinvermehrung festgestellt. Die Zellen bestehen fast nur aus Lymphozyten. Die kolloidchemischen Reaktionen verlaufen wie bei der Paralyse (vergl. Untersuchungsmethoden Seite 21-22 und Kurve Nr. 2).

Bei der spontanen Encephalitis des Kaninchens findet sich im Liquor eine Lymphozytose und Globulin- sowie Gesamteiweißvermehrung. Die zu Beginn der Krankheit gefundenen Zellzahlen zeigen in der Regel höhere Werte (bis zu mehreren Hundert Zellen). Ältere Fälle weisen meist Zellzahlen unter Hundert auf. Die Vermehrung des Gesamteiweißes geht im allgemeinen der Zellzahl parallel, hingegen nicht die Erhöhung der Globulinwerte. Die kolloidchemischen Reaktionen zeigen keine Einheitlichkeit. Bei längerer Dauer der Krankheit sind typische Paralysekurven festgestellt worden (Jahnel und Illert 1923).

Zusammenfassung.

Trotz zahlreicher Untersuchungen gelang es bis heute nicht, bei den verschiedenen natürlichen und den künstlich erzeugten Krankheiten des Kaninchens differentialdiagnostisch verwertbare und für die einzelnen Krankheiten einigermaßen kennzeichnende Liquorveränderungen aufzufinden. Lymphozytose, positive Globulinreaktionen, Gesamteiweißvermehrung sowie positive Goldsol- und Mastixreaktionen kommen bei allen organischen Erkrankungen des Z.N.S. vor. Es besteht heute kein Zweifel daran, daß die Liquorveränderungen in oben erwähntem Sinne ein Ausdruck der mesodermalen Reaktion des Z.N.S. sind. Die Stärke der Liquorveränderungen ist von der Stärke der entzündlichen Reaktion abhängig. Besonders aber spiegelt sich die Stärke und Art der Entzündungen, der

mesodermalen Gewebe in den zytologischen Verhältnissen des Liquors wieder.

C. Ueber die bisher bei der B.K. vorliegenden Liquorbefunde.

Die erste systematisch durchgeführte Arbeit über die Menge und den Eiweißgehalt des Liquors von gesunden, von an B.K., sowie an anderen Krankheiten gestorbenen Pferden stammt von Johne (1897).

Johne untersuchte den Liquor nach dem Tode der Pferde und fand bei gesunden und bei nicht an B.K. verendeten Pferden einen Eiweißgehalt von 0,124 bis 0,132% aber bei 5 an B.K. gestorbenen Tieren einen durchschnittlichen Eiweißgehalt von 0,089%, der also geringer war als bei gesunden und bei an anderen Krankheiten verendeten Tieren. Johne gibt nicht die Zeit an, die zwischen dem Eintritt des Todes und der Entnahme des Liquors verflossen ist.

In einer bis heute noch nicht nachgeprüften Arbeit beschreibt Joest (1911) die Liquorbefunde, die an nach dem Tode entnommenem Liquor von gesunden und an B.K. Pferden angestellt worden sind, folgendermaßen: „Der Eiweißgehalt des zellfreien Liquors bei normalen Pferden schwebt im allgemeinen zwischen 0,25 und 0,03% und beträgt auf 14 Fälle berechnet durchschnittlich 0,116%. Der Chlorgehalt bewegt sich zwischen 0,51 und 0,40% (durchschnittlich 0,433%). Bei an B.K. gestorbenen Pferden schwankt der Eiweißgehalt zwischen 0,34 und 0,40 (durchschittlich, berechnet auf 17 Fälle 0,163%.) Der Chlorgehalt wies Werte von 0,53% bis herunter zu 0,31% auf. Aus alledem ist zu schließen, daß sich Eiweiß und Chlorgehalt der zellfreien Zerebrospinalflüssigkeit bei der B.K. im allgemeinen verhalten wie bei normalen Pferden. Die Zerebrospinalflüssigkeit kranker Pferde weicht zytologisch nur unwesentlich von dem normalen Liquor ab. Die Zahl der Zellen ist etwas vergrößert, und zwar ist ihre Zunahme zum Teil auf eine Vermehrung der Lymphozyten, zum Teil auf das Auftreten von Polyblasten zurückzuführen. In der Hauptsache besteht eine leichte Lymphozytose des Liquors. Joest sagt nach diesem Befund, daß die Meningen bei der B.K. nur geringgradig und unwesentlich entzündet sein können, wenn man auf Grund der Untersuchung des Liquors allein überhaupt von einer Entzündung reden kann."

Die Joestschen Zell-, Eiweiß- und Chlorbefunde bei gesunden und an B.K. gestorbenen Pferden sind Untersuchungsergebnisse von Liquorproben, die von verschiedenen von der 4. bis zur 34. Stunde Tieren nach dem Tode entnommen worden waren. Es ist aber festgestellt, daß sich der Liquor nach dem Tode in wenigen Minuten chemisch und chemisch-physikalisch

ändert, daß er auch sehr rasch mit allerlei Zellen, die sich von den Meningen und Blutgefäßen ablösen, vermischt wird. Ferner weiß man, daß der Liquor eine zellauflösende Eigenschaft besitzt (nach O. Fischer werden in einer Stunde 50% der Zellen aufgelöst) und daß in der Agonie schon eine Permeabilitätsstörung vor sich geht, die zu einer Umstimmung des Liquors erheblich beitragen kann (Weigeldt 1923, Kafka 1929).

Wir müssen daher die Johneschen und Joestschen Untersuchungsergebnisse unter diesen Gesichtspunkten betrachten, die ihre Beweiskraft einschränken.

Systematische Liquoruntersuchungen bei B.K.-Kaninchen sind meines Wissens bis heute noch nicht ausgeführt worden. Nur Nicolau und Kopciowska (1931) geben kurz ihre Zellbefunde bei B.K.-Kaninchen wieder. Nach dem Tode entnommener Liquor enthält danach stets mononukleäre Zellen (Plasmazellen und Lymphozyten), deren Zahl von Fall zu Fall verschieden ist. Außerdem enthält der Liquor große Zellen, die wahrscheinlich ihre Entstehung den erkrankten Gehirn- und Rückenmarkshäuten verdanken.

Was die Befunde von Nicolau und Kopciowska, die an nach dem Tode entnommenem Liquor ermittelt worden sind, betrifft, so gelten auch die oben bei der Kritik der Liquoruntersuchungen von Johne und Joest erwähnten Möglichkeiten, die den Wert dieser Befunde erheblich vermindern.

D. Eigene Untersuchungen.

I. Untersuchungsplan.

Eine einwandfreie Verwertung der Liquorbefunde ist nur möglich, wenn die Liquorreaktionen planmäßig unter Berücksichtigung der einzelnen Bestandteile des Liquors durchgeführt werden. Da man gerade bei den biologischen Arbeiten aus einzelnen Reaktionen keine zu weitgehenden Schlüsse ziehen darf, können wir nur auf Grund der Gesamtergebnisse Anhaltspunkte für die Beurteilung des Krankheitszustandes gewinnen.

Ich arbeitete deshalb streng nach dem unten angegebenen Untersuchungsplan, wenn für alle Untersuchungen ausreichend Liquor vorhanden war.

Plan für die Liquoruntersuchung.

1. Entnahme des Liquors.
2. Physikalisch-chemische Untersuchung (Bestimmung des Wasserstoffexponenten).
3. Mikroskopische Untersuchung.
   a) Zellzählung.
   b) Färbung der Liquorzellen (Methylviolettlösung nach

Jakobsthal und May-Grünwald-Giemsa Farblösung nach Szésci).

4. Chemische Untersuchungen.
   a) Qualitative Globulinbestimmung.
      Phase I nach Nonne-Appelt.
      Pandysche Karbolsäurereaktion nach Zaloziecki.
      Weichbrodtsche Sublimatreaktion.
   b) Quantitative Gesamteiweißbestimmung (Salpetersäureschichtprobe nach Roberts-Stolnikoff-Brandberg-Zaloziecki).
5. Kolloidchemische Untersuchung.
   (Mastix-Lumbotestreaktion nach Emanuel-Rosenfeld).

II. Untersuchungsmethoden.

1. Technik der Entnahme des Liquors.

Zur Liquorgewinnung verwendete ich die von Plaut (1921) beschriebene „Suboccipitalpunktion" in leichter Morphiumnarkose (0.04—0.06 g).

Die von Plaut (1921) angegebene Punktionsnadel der Firma Fronhäuser in München hat sich bewährt. Wichtig ist, daß die Nadel nicht zu lang und spitz geschliffen ist, andernfalls gelangt man mit der langen Spitze in den Subarachnoidealraum; der Liquor kann dann nicht abfließen. Dabei kann es auch sehr leicht zu Verletzungen des Rückenmarks mit nicht selten tödlichen Lähmungen kommen. Irgend eine Verletzung muß möglichst vermieden werden, weil eine dabei entstandene Blutung die Untersuchung unmöglich macht. Durch öfteres Abschleifen muß die Nadelspitze kurz aber sehr scharf gehalten werden, damit ein leichtes Durchstechen der Haut und Muskeln und besonders aber der ziemlich derben Membran des Atlanto-occipitalgelenks ermöglicht wird und eine unnötige Zerreißung der in diesem Gewebe befindlichen Gefäße nicht zustande kommen kann. Die Nadel muß immer trocken und steril sein. Die Punktionsstelle wird rasiert und mit Alkohol leicht abgerieben.

Ausschlaggebend für den Erfolg ist die richtige Lagerung und Festhaltung des Kaninchens. Der Kopf muß maximal nach vorne abgebogen werden, wobei jede seitliche Verschiebung des Kopfes gegenüber der Wirbelsäule unbedingt vermieden werden muß. Bei dem Abbiegen des Kopfes dürfen die Nasenlöcher nicht zugedrückt werden, weil die Tiere sonst unruhig werden.

Das Kaninchen wird entgegen der Plautschen Angabe in der Seitenlage nur von einem Gehilfen gehalten, der auch den Kopf nach vorn abbiegt. Die maximale Beugung des Kopfes ist notwendig, um einmal den an und für sich sehr schmalen Spalt zwischen dem oberen Rand des Atlas und

des Occiput, der durch das Ligamentum atlanto-occipitale verschlossen ist, zu vergrößern, zweitens fühlt man die Knochenvorsprünge besser, die für die Orientierung über die Einstichstelle unentbehrlich sind.

Zur Feststellung der Einstichstelle muß man das individuell verschieden stark hervortretende Tuberculum posterius des Atlas ausfindig machen, das sich unmittelbar in der Tiefe vor der Spitze des Prozessus spinosus des Epistropheus und in der Mitte nahe dem oberen Rand des Atlas befindet. Diese Knochenvorsprünge sind leicht tastbar. Man sticht dann mit der Nadel unmittelbar am oberen Rande des Tuberculum posterius genau in der Mittellinie ein. Nachdem die Haut- und Muskelschicht durchstochen sind, fühlt man deutlich den größeren Widerstand des Ligamentum atlanto-occipitale. Jetzt muß man mit einem vorsichtigen kurzen und ziemlich kräftigen Druck die Membran und die darunter liegende Dura mater spinalis durchstoßen; hiermit wird die Zisterna cerebellospinalis eröffnet, der Liquor fließt aus der Nadel. Nach dem Durchbrechen der Membran vermeidet man jede unnötige Bewegung der Nadel, sonst ist es sehr leicht möglich, daß eine Blutung entsteht. Wenn das Tier sich heftig bewegt, muß man sofort die Nadel herausziehen.

Bei jeder Punktion ist die gewonnene Liquormenge verschieden. Sie beträgt etwa 0,5—2,0 ccm.

Je älter die Tiere sind, desto leichter geht die Punktion vor sich und desto mehr Liquor gewinnt man.

Bei genügender Uebung und Erfahrung gelingt die Punktion meist einwandfrei.

Da jede Bewegung der bereits in der Zisterne befindlichen Nadel eine Blutung hervorrufen kann, empfiehlt es sich, den Liquor nicht mit der Rekordspritze auszusaugen, wie Plaut dies für den Fall des Nichtabfließens anrät.

Todesfälle nach der Punktion sind selten. Ich habe bei meinen zahlreichen Punktionen nur einmal erlebt, daß ein Kaninchen nach Verletzung des Rückenmarks verendet ist. Einmal wurde bei einem Kaninchen das Rückenmark verletzt; es stellten sich Manegebewegungen ein, die aber nach einigen Tagen aufhörten; das Tier wurde wieder gesund.

2. Physikalisch-chemische Methoden.

Bestimmung des Wasserstoffexponenten. (pH-Zahl).

Die pH-Zahl wurde mit der Apparatur nach Dr. Roeder der Firma Gerber in Leipzig bestimmt. Damit konnte ich schnell die pH-Werte des Liquors bestimmen. Die Methode arbeitet sehr zuverlässig und gestattet auch die Messung bei kleinen Flüssigkeitsmengen. Bei der Untersuchung des Liquors, der 1—6 Stunden vorher entnommen worden war, reagierte

dieser stets stärker alkalisch (pH = 8,0-9,2) als der unmittelbar nach der Punktion untersuchte Liquor (7,4—7,8). Jene für eine Körperflüssigkeit ungewöhnlich hohe Zahl wird durch die rasche Zersetzung des Liquors beim Stehen verursacht, wie aus den folgenden Untersuchungen hervorgeht. Die pH-Werte waren bei sofortiger Untersuchung (7,4—7,85) niedriger als bei den späteren Bestimmungen (8,0—9,2). Nach dieser Feststellung habe ich wiederholt pH-Wert-Bestimmungen bei demselben Liquor vorgenommen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigen deutlich, daß die pH-Zahl des längere Zeit (1-6 Stunde) gestandenen Liquors sich auffallend rasch erhöhte. Die pH-Zahl des Liquors beim Kaninchen (Nr. 136) betrug z.B. 5 Minuten nach der Entnahme 7,65; nach 30 Minuten 7,9; nach 1 Stunde erhöhte sich die pH-Zahl auf 8,1, nach 2 Stunden auf 8,4 und nach 5 Stunden auf 9,0.

Bei den Liquor von 11 Kaninchen wurden durch die fortlaufende Bestimmung der pH-Werte dieselben Ergebnisse wie oben erzielt.

Demnach ist es sehr wichtig, daß die pH-Zahl sofort nach der Entnahme des Liquors bestimmt wird.

3. Mikroskopische Methoden.

a) Zählung der Liquorzellen. Für die Zählung der Zellen benutzte ich die Fuchs-Rosenthalsche (1904) Zählkammer. Der Rauminhalt in der Kammer ist 3,2 cmm. Wenn die ganze Kammer durchgezählt ist, muß die gewonnene Zahl durch 3 (3,2) dividiert werden. Z.B. $^{104}/_{3}$

Zur Zählung beschickte ich die Kammer bei der Punktion direkt aus der Punktionsnadel mit einem Tropfen und nahm gleich darauf die Zählung vor.

Ich zählte die Zellen ohne Färbung oder Essigsäurezusatz zum Liquor, um bei den weißen Blutzellen Formveränderungen zu vermeiden und weil außerdem bei der Zählung ohne Färbung die roten Blutkörperchen leichter erkannt werden, da sie fast immer die Stechapfelform und ihre gelbliche Farbe aufweisen, wodurch eine sichere Unterscheidung von weißen Blutzellen möglich ist.

Eine Auflösung der Erythrozyten durch Essigsäure ist auch deshalb nicht wünschenswert, weil die Kenntnis der Blutbeimischung wichtig ist für die Beurteilung der Eiweißreaktion, die durch die Beimengung von Blut eine Verstärkung erfahren würde. Sobald bei einer Punktion eine, wenn auch nur ganz geringe, Blutung in den Subarachnoidealraum entstanden ist, kommt es zu einer reaktiven Zellvermehrung, die wochenlang andauern kann. Solche Blutungen müssen vermerkt werden, damit man sich vor Fehlschlüssen schützt. In diesem Falle muß man eine Pause von 8—14 Tagen bis zur nächsten Punktion einschieben.

Es empfiehlt sich, die Zählung möglichst gleich nach der Punktion vorzunehmen; denn auch bei nur kurzem Stehen verändern die Zellen ihre Gestalt (Rehm 1932).

In diesem Zusammenhang muß besonders berücksichtigt werden, daß der Liquor eine zellauflösende Eigenschaft besitzt,

Jeder normale und pathologische Liquor schädigt die in ihm enthaltenen Zellen und löst sie auf. O. Fischer führt Fälle an, in denen sich die Liquorzellzahl schon in einer Stunde um 50% verminderte (Weigeldt 1923).

b) Die Färbung der Liquorzellen. Zur schnellen, wenn auch gröberen Differenzierung der Zellen färbt man die Liquorzellen vor der Zählung mit Methylviolett, beschickt die Kammer mit dem gefärbten Liquor und zählt die Zellen in gefärbtem Zustande.

Zur Färbung bediente ich mich der von Jakobsthal (1922) empfohlenen Methylviolettlösung (gesättigte alkoholische Methylviolettlösung 15,0; Acidum aceticum glaciale 5,0; Aqua destillata ad 100,0).

Möglichst sofort nach der Liquorentnahme saugt man bis zur Marke I der Mischpipette für weiße Blutkörperchen Methylviolettlösung und danach bis Marke II Liquor auf, mischt und beschickt dann die Zählkammer. Die angegebene Konzentration des Methylvioletts hat gegenüber der von Fuchs-Rosenthal (1904) empfohlenen Konzentration (Methylviolett 0,10; ac. acet. glac. 2,0; Aq. dest. 50,0) den Vorteil, dass die Kerne nicht so intensiv gefärbt werden und die Kernstruktur erhalten bleibt. Dadurch wird eine leichtere Differenzierung der Lymphozyten und der Plasmazellen möglich.

Zur feineren morphologischen Differenzierung der Liquorzellen verwendet man zwei besondere Zellfärbungsmethoden, die hämatologische und die histologische. Die Untersuchungen haben gezeigt, daß die Zellen des Liquors andere mikroskopische und tinktorielle Eigenschaften haben als die gewöhnlichen weißen Blutkörperchen; daher ist die hämatologische Färbetechnik nur mit gewissen Modifikationen anzuwenden. Die Liquorzellen sind empfindlicher und nehmen den Farbstoff leichter auf als die Zellen des Blutes.

Die für die Differenzierung der Liquorzellen am meisten verwendeten hämatologischen Methoden sind die französische Methode (Vidal, Sicard und Ravout 1901), die Methode nach v. Fischer (1906) und Kafka (1910) und weiterhin diejenige nach Szésci (1912). Wegen der Umständlichkeit dieser Methoden und der bei diesen Verfahren unvermeidlichen Formschädigungen der Zellen beim Zentrifugieren, ferner wegen der geringen beim Kaninchen zur Verfügung stehenden Liquormenge habe ich mich folgender einfacherer Methode bedient:

1. Verbringen von 2 Tropfen Liquor unmittelbar aus der Nadel auf verschiedene Stellen des Objektträgers.
2. Trocknen im Brutschrank bei 37°.
3. Fixierung mit der May-Grünwaldschen Farblösung ½-1 Minute.
4. Abgießen der Lösung.
5. Weiterhin Färbung mit Giemsa-Lösung (Aqua-destillata 10,0 ccm + Giemsa-Lösung 5 Tropfen) während 20 Sekunden.
6. Abgießen, abwaschen in destilliertem Wasser und trocknen der Präparate.
7. Differenzierung durch Zusatz eines Tropfens Alkohol zum getrockneten Präparat; Abtrocknen mit Fließpapier.

Bei dieser von Szésci empfohlenen Färbemethode sind besonders die Zell- und Kernstrukturen gut zu erkennen. Ich habe fast immer schöne,

dem gewöhnlichen Blutzellbild ähnliche Liquorzellbilder bekommen, sodaß eine feinere Differenzierung der Liquorzellen und ein Vergleich mit Blutzellen möglich war.

Die histologische Methode Alzheimers (1907) verlangt 5 ccm Liquor. Da beim Kaninchen mit kleinen Liquormengen gearbeitet werden muß, ist diese Methode für die vorliegenden Liquoruntersuchungen nicht geeignet. Weil weiterhin auch keine dem hämatologischen Blutbilde ähnlichen Zellbilder erzielt werden können, so gibt diese Methode m. E. kein befriedigendes Ergebnis. Ich habe diese Methode nur einmal bei 5 Kaninchen angewandt.

Für die morphologische Zelldifferenzierung genügte die oben beschriebene Färbetechnik nach Szésci vollkommen, ohne daß vorher der Liquor zentrifugiert wurde.

4. Chemische Methoden.

Untersuchungen am Kammerwasser und Kaninchenliquor veranlaßten Plaut (1921), mit wenig Material eine größere Reihe von Untersuchungen durchzuführen. Dadurch entstandene und von Plaut ausgebaute Mikromethoden haben bei meinen Liquoruntersuchungen als Grundlage gedient. Bei quantitativen Untersuchungen, die eine große Genauigkeit verlangen, (z.B. bei der Gesamteiweißbestimmung) und bei der Nonne-Appeltschen (Phase I) Globulinreaktion, sowie bei der Weichbrodtschen Globulinbestimmung, bei denen abgemessene Flüssigkeitsteile gemischt werden sollen, habe ich Pipetten, bei der Pandyschen Globulinreaktion die Tropfenmethode benutzt.

a) Qualitative Globulinbestimmung im Liquor.

Da jeder normale Liquor in geringerem Maße eiweißhaltig ist, versuchte man eine Liquor-Eiweißreaktion ausfindig zu machen, die scharf die Grenze zwischen normalem und pathologischem Liquor angibt, d.h. bei der normale Mengen Eiweiß nicht, jedoch jede pathologische Vermehrung angezeigt wird.

Für diese Zwecke wurden verschiedene Globulinreaktionen in die Liquoruntersuchungstechnik eingeführt, von denen besonders drei wegen ihrer Zuverlässigkeit und Einfachheit an erster Stelle stehen:

α) die Phase I nach Nonne-Appelt (1907),
β) die Pandysche (1910) Globulinreaktion nach Zalozieki (1913),
γ) die Weichbrodtsche Globulinreaktion (1916).

α) Die Phase I nach Nonne-Appelt.

Man stellt sich eine gesättigte Ammoniumsulfatlösung her, indem man ca. 85,0 gr. Ammonium sulf. puriss. neutr. (Merk) mit 100,0 ccm destilliertem Wasser übergießt und so lange kochen läßt, bis sich der Bodensatz nicht mehr löst. Nach dem Erkalten wird filtriert.

Ich verwandte die von der Firma Merck für die Phase I hergestellte Lösung. Die Lösung muß neutral reagieren. Zur Herstellung der Reaktion benutzte ich selbst hergestellte Präzitationsröhrchen von 0,5 cm lichter

Weite und von 4 cm Länge und mischte gleiche Teile von Liquor (0,1 ccm) und Ammoniumsulfatlösung (0,1 ccm); nach dem Durchmischen (Schütteln) ließ ich 3 Minuten stehen und las dann das Ergebnis ab.

Der Befund wurde folgendermaßen festgelegt: Trübung, Opaleszenz, schwache Opaleszenz, Spur Opaleszenz, klar.

β) Die Pandysche Karbolsäurereaktion, modifiziert von Zaloziecki.

80-100 gr. Acid. carbol. liquefact. werden mit 1 Liter destilliertem Wasser kräftig geschüttelt (Schüttelapparat), dann einige Stunden im Brutschrank bei 37° und mehrere Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die über der öligen Karbolsäure sich absetzende gesättigte Karbolsäurelösung wird abgegossen und als Reagenz benutzt. Zur Herstellung der Reaktion füllt man in ein Uhrschälchen etwas von dieser Karbolsäurelösung und läßt einen Tropfen Liquor darauf fallen. Nach 3 Minuten schätzt man die Stärke der auftretenden Trübung ab (Spur einer Trübung: -, deutliche Trübung: +, starke Trübung: ++).

Um die Trübung feiner differenzieren zu können, setzte ich das Uhrschälchen auf einen innen schwarzgestrichenen Kasten, der in der oberen Fläche mehrere Oeffnungen für die Aufnahme der Schälchen besitzt und eine indirekte Beleuchtung von unten gestattet. (Nähere Beschreibung bei Zaloziecki).

γ) Die Weichbrodtsche Sublimat-Reaktion.

Zur Herstellung der Reaktion fügt man 0,03 ccm einer 1%igen Sublimatlösung zu 0,07 ccm Liquor (in einem Präzitationsröhrchen) und liest das Ergebnis nach dem Schütteln sofort ab. Die Beurteilung der Trübungsgrade erfolgt wie bei der Phase I nach Nonne-Appelt.

Die exakteste Globulinbestimmung erfolgt durch die Phase I-Reaktion. Bei dieser Reaktion werden Pseudo-, Eu- und Fibringlobuline gefällt. (Kafka).

Die Pandysche Reaktion ist wohl als die feinste zum Nachweis von Globulin anzusehen, so daß man gelegentlich auch bei normalem Liquor ein sehr schwach positives Ergebnis findet, bei Fällen, die an der Grenze des Normalen und Pathologischen stehen. Ein negativer Ausfall schließt eine pathologische Eiweißvermehrung mit Sicherheit aus.

Die Weichbrodtsche Sublimatreaktion übertrifft hinsichtlich der Empfindlichkeit die Nonne-Appelt-Reaktion Phase I. Kafka nimmt an, daß durch Sublimat die Pseudo-, Eu- und Fibringlobuline niedergeschlagen werden. Dagegen macht jedenfalls die Pandysche Karbolsäure-Reaktion den Eindruck, als würde durch die Karbolsäure auch ein kleiner Teil der Albumine gefällt werden.

b) Quantitative Gesamteiweißbestimmung im Liquor.

Die refraktometrische Bestimmung des Eiweißes läßt sich bei eiweißarmen und kochsalzhaltigen Medien wie dem Liquor nicht exakt durchführen.

Da die Esbachprobe nach Nissl (1904) 2 ccm und die Bestimmung der Eiweißrelation nach Kafka (1926) 0,6 ccm

Liquor verlangen, scheiden diese Reaktionen bei Liquoruntersuchungen des Kaninchens aus; die zur Verfügung stehende Liquormenge reicht nicht aus.

Wesselys (1900) Trübungsmethode mit Esbachschem Reagenz oder einer 10 proz. Tanninlösung und Mestrezats Fällungsmethode mit Trichloressigsäure würden sich auch für kleine Mengen einstellen lassen; die Proben sind aber ungenau (Plaut, 1921).

Die von Roberts-Stolnikoff-Brandberg für die quantitative Eiweißbestimmung in Urin angegebene Salpetersäureschichtprobe wurde zuerst von Pfaundler (1899) bei Lumbalpunktion an Kindern erfolgreich angewandt. Zaloziecki (1913) hat sie dann weiterhin ausgebaut. Er stellte eine Grenzverdünnung für Liquor fest, die nach drei Minuten noch eine Ringbildung an der Schichtgrenze des Liquors und der Salpetersäure wahrnehmen läßt. Diese Grenzverdünnung entspricht nach Zalozieckis Feststellung einem Eiweißgehalt von $^1/_{60}$ Promille.

Unter Zugrundelegung dieses Wertes hat Grahe (1914) eine Tabelle aufgestellt, die gestattet, den den verschiedenen Verdünnungen entsprechenden Eiweißgehalt in Promille abzulesen.

Ich arbeitete nach dieser Methode, die ich kurz beschreiben will. Plaut empfiehlt für kleinere Mengen die Tropfenmethode. Wegen der Ungenauigkeit der Tropfengröße habe ich mit 1 ccm Pipetten (eingeteilt in 100 Teile) gearbeitet.

Ich stellte eine Stammlösung von 0,1 ccm Liquor mit 0,9 ccm 0,85 %iger physiologischer Kochsalzlösung her, also eine Verdünnung von 1 : 10. Aus dieser Stammlösung werden nach dem Graheschen Schema weitere Verdünnungen angesetzt und mit Salpetersäure vom spezifischen Gewicht 1,18 unterschichtet. Die Unterschichtung habe ich mit einer fein ausgezogenen Kapillarpipette, die mit einer Gummikappe versehen war, vorgenommen und zwar von den schwächeren zu den stärkeren Konzentrationen. Zur Beurteilung des Eiweißgehaltes wird das letzte Röhrchen herangezogen, das nach 3 Minuten an der Grenzfläche einen schwachen, aber noch deutlichen Ring zeigt.

Bei der Beobachtung der Röhrchen benutzte ich zur Feststellung einer feineren Ringbildung den von Zaloziecki empfohlenen lichtdichten, innen mit Tusche angeschwärzten Kasten (10,5×35×10), der an der längeren Seite offen und mit einem der Augenweite angepaßten Ausschnitt versehen ist. Am Deckel befindet sich eine Reihe von Löchern (7 bis 10), in die die beschickten Röhrchen hineingestellt werden. Mit einer Glühlampe muß jeweils das zu beobachtende Röhrchen von oben beleuchtet werden. Durch Verwendung dieses Kastens habe ich immer exakte Ergebnisse gewonnen.

5. Kolloidchemische Methoden.

Bei den kolloidchemischen Reaktionen des Liquors wird versucht, durch eine geeignete Technik gewisse kolloidale Lösungen (Mastixsol, Paraffinsol, Goldsol usw.) durch die Eiweißwirkung des Liquors zu verändern (auszufällen). Die entsprechenden Reaktionen werden kurvenmäßig aufgezeichnet.

C. Lange (1912) hat zuerst die Goldsollösung für die Liquoruntersuchung angewandt. Die Schwierigkeit der immer gleichen Goldsolherstellung und die hohe Empfindlichkeit der Reaktion veranlaßten Emanuel (1915), die Mastixlösung in die Technik einzuführen. Die Mastixreaktion wurde von Jakobsthal und Kafka weitgehend modifiziert. Durch die Einführung des Normosals durch Kafka als Verdünnungsflüssigkeit (zu beziehen von den Lingner-Werken Dresden) ist diese Mastixreaktion als Normomastixreaktion vereinfacht worden.

Endlich ist durch Herstellung einer gebrauchsfertigen standardisierten Mastixstammlösung und einer entsprechenden Verdünnungsflüssigkeit durch Emanuel und Rosenfeld (1927) die Emanuelsche Original-Mastixreaktion grundsätzlich verbessert und vereinfacht worden.

Ich habe aus diesen Gründen auch bei meinen Untersuchungen die Emanuel-Rosenfeldsche Mastix-Lumbotest-Reaktion angewandt. Sie ist bei den Untersuchungen mit kleineren Mengen sehr empfehlenswert. Bei größeren Mengen ist sie zu teuer.

Zur Ausführung der Reaktion werden Mastixstammlösung (Lösung I) und Verdünnungsflüssigkeit (Lösung II) gebraucht.

Von der zur Untersuchung bestimmten Mastixlösung werden 2,5 ccm oder 1,25 ccm, je nach dem Bedarf von der alkoholischen Mastix-Stammlösung (Lösung I) ziemlich rasch, sodaß gerade noch Tropfen entstehen, aus einer Pipette bei leichtem Schwenken des Glases in 10 ccm destilliertes Wasser getropft. Die Verdünnungsflüssigkeit (Lösung II) ist schon gebrauchsfertig.

Zur Ausführung der Reaktion werden in ein Reagenzglasgestell 10 trockene, saubere Röhrchen von etwa 8 mm Durchmesser gestellt. Links beginnend füllt man in jedes Röhrchen 0,2 ccm (beim Original-Verfahren 1,0 ccm) der Verdünnungsflüssigkeit. Liegt im Liquor eine Gesamteiweißvermehrung nicht vor, so genügen auch 6 Röhrchen.

Dann pipettiert man von dem zu untersuchenden Liquor 0,2 ccm (beim Original-Verfahren 1,0 ccm) ins erste Glas und überträgt aus dem ersten Röhrchen 0,2 ccm Flüssigkeit ins zweite und so fort bis zum letzten Glas. Der aus dem letzten Glas pipettierte Rest (0,2 ccm) wird weggegossen. Auf diese Weise entsteht eine Verdünnungsreihe von $^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_8$, $^1/_{16}$, $^1/_{32}$ usw. des Liquors.

Darauf gibt man in jedes Röhrchen 0,2 ccm Mastixsol. Die Gläser werden leicht geschwenkt, so daß die Flüssigkeiten sich gut mischen. Man läßt die Röhrchen bis zum Ablesen möglichst im Schatten oder besser im Dunklen stehen. Das Untersuchungsergebnis wird nach 18—24 Stunden abgelesen. Bei der Ablesung werden am zweckmäßigsten in Parallele zur Langeschen Goldsolreaktion 5 Trübungsgrade unterschieden.

I) leichte Opaleszenz und Gelbfärbung
II) milchige Trübung (diffus): Trübung +
III) geringer Bodensatz, überstehende Flüssigkeit trübe: Ausflockung +
IV) starker Bodensatz, überstehende Flüssigkeit getrübt: Ausflockung ++

V) vollständige Ausflockung, überstehende Flüssigkeit klar: Ausflockung +++.

Bei normalem Liquor tritt höchstens im ersten Röhrchen bisweilen auch im zweiten eine leichte Opaleszenz mit Gelbfärbung, nie aber eine milchige Trübung, die schon als pathologisch angesehen werden muß, auf; alle übrigen Röhrchen bleiben klar.

Bei krankhaft verändertem Liquor treten verschiedene Trübungsgrade ein. Sie liefern für gewisse Krankheitsgruppen kennzeichnende Kurventypen, die bei der Differentialdiagnose der menschlichen Erkrankungen des Z.N.S. eine große Rolle spielen.

Als Beispiele mögen einige Kurventypen dienen:

Röhrchen:	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Typus f. normalen Liquor	0-I	0	0	0	0	0	0	0	0
„ „ Tabes	IV	V	IV	III	II	I	0	0	0
„ „ Paralyse	V	V	V	IV	III	II	I	0	0
„ „ Meningitis	0	I	II	III	III	IV	III	II	0

(Die römischen Zahlen bedeuten die Trübungsgrade wie vorstehend erläutert).

Die Anstellung der Reaktion ist sehr leicht und gestattet, mit kleinen Liquormengen (0,1-0,2 ccm) zu arbeiten, was bei den Liquoruntersuchungen von Kaninchenliquor sehr wertvoll ist. Durch die standardisierten gebrauchsfertigen Mastix- und Verdünnungslösungen bekommt man stets gleichmäßige Untersuchungsergebnisse.

III. Uebersicht über die durchgeführten Untersuchungen.

Bei meinen Liquoruntersuchungen habe ich gesunde und künstlich mit dem Virus der B.K. intrazerebral infizierte Kaninchen verwendet.

Folgende Untersuchungen wurden angestellt:

1. Bei 44 gesunden Kaninchen wurde der Liquor zur Prüfung der normalen Verhältnisse untersucht.
2. Bei 5 Kaninchen wurde in 2-, 3- und 4-tägigen Abständen Liquor entnommen, um festzustellen, ob die häufiger vorgenommene Punktion irgend eine Veränderung des Liquors hervorrufen kann.
3. Ferner wurde der Liquor von einem Kaninchen untersucht, das klinisch eine Schiefhaltung des Kopfes und bei den Kontrolluntersuchungen eine erhebliche Liquorveränderung zeigte.
4. Weiterhin entnahm ich Liquor von 5 Kaninchen, die an Kokzidiose erkrankt waren und Liquorveränderungen zeigten.
5. Insgesamt wurde der Liquor bei 70 intrazerebral mit dem Virus der B.K. infizierten Kaninchen untersucht.
6. Um festzustellen, wann die Liquorveränderung zeitlich nach der intrazerebralen Impfung mit dem Virus der B.K. eintritt, wurden 14 intrazerebral geimpfte Kaninchen untersucht.
7. Zur Ermittlung der Ursachen und der Natur der gleich nach der intrazerebralen Impfung auftretenden Liquorveränderungen wurden folgende Versuche angestellt:
   a) 2 Kaninchen wurden intrazerebral mit 0,3 ccm Normalgehirn (in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt) geimpft.
   b) 3 Kaninchen wurden intrazerebral nur mit 0,3 ccm physiologischer Kochsalzlösung geimpft.
   c) Bei 2 Kaninchen wurde, wie für die intrazerebrale Impfung, nur das Schädeldach durchbohrt und mit der sterilen Nadel 3—5 mm ins Großhirn gestochen.

8. 3 Kaninchen wurden intranasal infiziert (zweimalige Einführung eines mit infizierter Gehirnaufschwemmung getränkten Tupfers.
9. Weiterhin untersuchte ich Gehirnschnitte von 112 an B.K. verendeten Kaninchen (Institutspräparate) und Gehirnschnitte von 17 meiner Versuchstiere.

IV. Liquorbefunde bei gesunden und kranken nicht mit dem Virus der B.K. infizierten Kaninchen, sowie bei solchen, die mit dem Virus der B.K. infiziert wurden.

Kontrolluntersuchungen des Liquors bei den Versuchstieren vor dem Versuch: Seit das Kaninchen als Versuchstier bei den Übertragungen menschlicher Infektionskrankheiten des Z.N.S. benutzt wird, hat sich herausgestellt, daß sich bei anscheinend normalen Kaninchen am Z.N.S. öfters durch klinische Beobachtung schwer oder nicht erkennbare spontane Entzündungsvorgänge abspielen können, die auch Liquorveränderungen hervorrufen. Diese Krankheiten sind einzeln in der Einleitung beschrieben worden.

Um unter allen Umständen solche, den Untersucher irreführende, spontanencephalitische Erkrankungen der Versuchstiere möglichst ausschließen zu können, nahm ich bei jedem Kaninchen vor Versuchsbeginn mindestens 3 mal eine Kontrolluntersuchung des Liquors vor.

Tabelle 1

Liquorbefunde bei gesunden Kaninchen.

Uebersicht über die Untersuchungen bei 10 von 44 geprüften Kaninchen. *)

	Kaninchen Nr.	Punktiert am	Lymphozyten klein	Lymphozyten groß	Lymphozyten Gesamt-Zahl	Globulinreakt. nach Pandy	Globulinreakt. nach Phase I	Globulinreakt. nach Weichbrodt	Gesamteiweiß $\frac{0}{000}$	Mastix-Lumbotest-Reaktion					
1	160	20.VII.34	3	2	5	—	—	—	1/4	I	I	0	0	0	0
2	161	„	14	8	22	—	—	—	1/4	I	I	0	0	0	0
3	162	„	2	7	9	—	—	—	1/5	I	I	0	0	0	0
4	163	„	7	6	13	—	—	—	1/5	I	I	0	0	0	0
5	164	„	3	4	7	—	—	—	1/5	I	I	0	0	0	0
6	165	„	4	6	10	—	—	—	1/5	I	I	0	0	0	0
7	110	2.VI.34	4	2	6	—	—	—	1/6	I	I	0	0	0	0
8	4632	8.VI.33	3	0	3	—	—	—	1/6	I	I	0	0	0	0
9	6099	30.V.34	1	0	1	—	—	—	1/6	I	I	0	0	0	0
10	4625	7.VI.33	19	6	25	—	—	—	1/4	I	I	0	0	0	0

*) Die vollständigen Protokolle befinden sich im Veterinärhygienischen- und Tierseuchen-Institut, Gießen.

1) Bei gesunden Kaninchen ist der normale Liquor eine vollkommen wasserklare, farblose und nicht gerinnende Flüssigkeit. Die gewonnene Menge des Liquors normaler Kaninchen betrug 0,5—2 ccm.

Der Wasserstoffexpont (pH) schwankte bei 19 Kaninchen zwischen 7,4—7,85. Die pH-Zahl wurde sofort nach der Punktion bestimmt. Nach Kasahara (1923) beträgt die pH-Zahl des Liquors von normalen Kaninchen 7,40—7,55 (nach Michaelis bestimmt). Der Liquor reagiert mit Lackmus schwach alkalisch.

Der normale Liquor ist zellarm. Die Zahl der in 3 cmm Liquor (Fuchs-Rosenthalsche Zählkammer) enthaltenen Zellen beträgt auf Grund der Untersuchung von 44 Kaninchen durchschnittlich 8 (⅞). Sie schwankt zwischen $^{1}/_{3}$ und $^{25}/_{3}$. Von den Tieren wies aber nur eines $^{25}/_{3}$, ein zweites $^{22}/_{3}$ Zellen auf. Bei den anderen insgesamt 42 Kaninchen stieg dagegen die Zellzahl niemals über $^{15}/_{3}$. Damit stimmen meine Befunde mit den von Plaut (1922) angegebenen überein. Plaut sieht 0-5 Zellen in 1 cmm als normal, 6-9 Zellen als „Grenzwert" und 10 und mehr Zellen als pathologisch an. Nach Kasahara (1923) beträgt die normale Zellzahl in 1 cmm 0-5.

Bei meinen gesunden Kaninchen habe ich im Liquor eine diesen „Grenzwert" übersteigende Zellzahl niemals festgestellt (Tabelle 1).

2) Um zu ermitteln, ob durch die nach kurzen 2-, 3- und 4-tägigen Abständen wiederholte Punktion eine Veränderung der Zellzahl und des Gesamteiweißgehaltes verursacht wird, habe ich 7 Kaninchen untersucht. Bei 5 Kaninchen wurde die Punktion 4 mal wiederholt. Die Zellzahl stieg nicht merklich an. Nur bei 2 Kaninchen betrug sie bei der zweiten Punktion $^{44}/_{3}$, um nach 2 Tagen wieder normal zu werden. Bei einem weiteren Kaninchen stellte ich $^{148}/_{3}$ fest, nachdem bei der vor 2 Tagen durchgeführten Punktion eine Blutung eingetreten war. Vor- und nachher war die Zahl der Zellen im Liquor dieses Tieres nicht erhöht. Die Höchstzahlen bei wiederholter Punktion betrugen, wenn bei der vorhergehenden Punktion eine Blutung in den Subarachnoidealraum nicht vorlag, $^{25}/_{3}$. Also hat die wiederholte Punktion auf die Zellzahl (und andere Bestandteile) des Liquors keinen Einfluß. Diesen Befund konnte ich bei meinen zahlreichen Untersuchungen immer bestätigen.

Die im Liquor des gesunden Kaninchens enthaltenen Zellen sind, wie dies auch Plaut angibt, ausschließlich kleine und große Lymphozyten.

Die Globulinreaktionen sind negativ. Nur in vereinzelten Fällen zeigte die Pandysche Reaktion eine sehr geringgradige Trübung.

Tabelle 2

Liquorbefunde bei 2 (von insgesamt 7 geprüften) gesunden Kaninchen, die in 2, 3 und 4tägigen Abständen wiederholt punktiert wurden.

	Kaninchen Nr.	Punktiert am	Lymphozyten klein	Lymphozyten groß	Lymphozyten Gesamt-Zahl	Globulinreakt. nach Pandy	Globulinreakt. nach Phase I	Globulinreakt. nach Weichbrodt	Gesamteiweiß ‰	Mastix-Lumbotest-Reaktion					
1	4627	7.VI.33	5	5	10	—	—	—	1/4	I	I	0	0	0	0
		9.VI.	7	8	15	—	—	—	1/5	I	I	0	0	0	0
		12.VI.	13	7	20	—	—	—	1/4	I	I	0	0	0	0
		16.VI.	20	4	24	—	—	—	1/6	I	I	0	0	0	0
		19.VI.	4	2	6	—	—	—	1/4	I	I	0	0	0	0
2	4631	8.VI.33	4	3	7	—	—	—	1/5	I	I	0	0	0	0
		10.VI.	9	11	20	—	—	—	1/4	I	I	0	0	0	0
		12.VI.	5	3	8	—	—	—	1/5	I	I	0	0	0	0
		16.VI.	4	3	7	—	—	—	1/5	I	I	0	0	0	0
		19.VI.	5	7	12	—	—	—	1/4	I	I	0	0	0	0

Der Gesamteiweißgehalt des normalen Liquors schwankte zwischen 1/6 und 1/4 ‰.

Die kolloidchemische Mastix-Lumbotest-Reaktion ergab die für normalen Liquor kennzeichnende Mastixkurve (Tabelle 2).

3) Bei meinen Liquoruntersuchungen habe ich an Spontanencephalitis erkrankte Kaninchen nicht angetroffen. Mein Befund bestätigt die durch Zwick und seine Mitarbeiter (1927) im Veterinärhygienischen und Tierseuchen-Institut seit mehreren Jahren gemachten Beobachtungen, wonach überhaupt Krankheitsfälle dieser Art nicht festgestellt wurden. Nur einmal habe ich ein Tier ermittelt, dessen Liquor eine vermehrte Zellzahl 430/3, erhöhten Globulingehalt (Pandy: , Phase I und Weichbrodt: Opaleszenz) aufwies. Dieses Tier zeigte bereits klinisch Krankheitserscheinungen in Form einer Schiefhaltung des Kopfes, die nach einem starken Befall mit Ohrräude, die behandelt wurde, zurückblieb. Es ist auch bekannt, daß im Anschluß an Ohrräude eine Otitis media und durch Fortschreiten der Entzündung eine meningitische und encephalitische Entzündung entstehen kann; die Tiere halten dann den Kopf schief (O. Ostertag).

Zwei mit Gehirnemulsion dieses Tieres intrazerebral geimpfte Kaninchen zeigten bei 4 Monate langer Beobachtung keine Liquorveränderung, auch fehlte jegliche Krankheitserscheinung während dieser Zeit.

4) Von 7 unter dauernder Liquorkontrolle stehenden Kaninchen zeigten 5 nach verschieden langer Zeit (15—82 Tage) eine geringgradige Zellvermehrung, sowie eine Globulin- und Gesamteiweißerhöhung. Ferner lag eine atypische Veränderung der Kolloidkurve vor.

Tabelle 3.

Liquorbefunde bei einem an Kokzidiose erkrankten Kaninchen (insgesamt 5 untersucht).

	Kaninchen Nr.	Punktiert am	Lymphozyten klein	Lymphozyten groß	Lymphozyten Gesamt-Zahl	Globulinreakt. nach Pandy	Globulinreakt. nach Phase I	Globulinreakt. nach Weichbrodt	Gesamteiweiß %	Mastix-Lumbotestreaktion							
1	136	19.VIII.34	2	1	3	—	—	—	1/5	I	I	0	0	0	0		
		24.	5	2	7	—	—	—	1/5	I	0	0	0	0	0		
		29.	1	1	2	—	—	—	1/4								
		3.IX.	3	2	5	—	—	—	1/5								
		7.	42	9	51	++	schw. Opales		1/2	V	III	II	0	0	0	0	0
		13.	44	6	50	++	Opales.		2/3	V	V	III	II	0	0	0	0
		18.	60	10	70	++	„	„	1/3	V	III	III	II	I	0		
		26.IX.	21	10	31	+	schw. Opales		1/3	IV	III	II	0	0	0		

Bei diesen 5 im Laufe der Untersuchung verendeten Kaninchen wurde Darm- und Leberkokzidiose festgestellt. Da die histologische Untersuchung des Gehirns eine mehr oder weniger ausbreitende Meningo-encephalitis (Seifried) ergab, war die festgestellte Liquorveränderung, die nicht auf andere encephalitische Erkrankungen (Spontanencephalitis und B.K.) zurückzuführen war, durch die Kokzidiose zu erklären.

Im Schrifttum habe ich Angaben über Liquorveränderungen, die zweifellos auf einer durch die Kokzidiose entstandenen infiltrativen Reizung des Gehirns und der Leptomeningen beruhen, nicht angetroffen; deshalb möchte ich wegen der Wichtigkeit der Beurteilung der wirklichen, durch verimpftes infektiöses Material verursachten Liquorveränderungen die Liquorbefunde bei diesen 5 Kaninchen kurz beschreiben.

Bei dem Kaninchen Nr. 156 stieg die Zellzahl, ohne daß das Tier vorher irgend eine Krankheitserscheinung gezeigt hatte, nach 4 maliger Liquoruntersuchung in 5 tägigen Abständen von normalem Liquorbefund (6/3, 9/3, 11/3, 19/3) plötzlich auf 59/3. Die Globulinreaktion wurde positiv (Pandy: +, Phase I und Weichbrodt: schwache Opaleszenz). Der Gesamteiweißgehalt war geringgradig vermehrt (1/3 %). Zwei Tage später machte das Tier einen schläfrigen Eindruck und zeigte eine verminderte Freßlust; nach weiteren 4 Tagen starb das Kaninchen.

Auch beim 2. Kaninchen (Nr. 136) ermittelte ich nach 4 maliger Punktion (in 18 Tagen) eine Zellvermehrung auf 51/3 mit einer positiven Globulinreaktion (Pandy: ++, Phase I und Weichbrodt: schwache Opaleszenz). Bei den vorherigen Punktionen ergaben sich folgende

Zellzahlen: ^{3} 3, ^{7}/3, ^{2} 3 und ^{5} 3. Der Gesamteiweißgehalt war vermehrt (^{1}/$_{2}$ ^{0}/$_{00}$). Bei den 2 weiteren Untersuchungen betrugen die Zellzahlen ^{50} 3, ^{70} 3, ^{31} 3; sie waren immer mit positiver Globulinreaktion und Gesamteiweißvermehrung (^{2} 3 ^{0}/$_{00}$, ^{1} 3 ^{0}/$_{00}$ und ^{1} 3 ^{0}/$_{00}$) verbunden. Das Kaninchen erkrankte (klinisch) 9 Tage nach der ersten Feststellung der Zellvermehrung (Apathie, Verminderung der Futteraufnahme, Durchfall) und starb nach weiteren 8 Tagen (Tabelle 3).

Das 3. Kaninchen Nr. 6095 zeigte nach einer 2^{1} 2 Monate lang durchgeführten Kontrolluntersuchung die normale Zellzahlen aufwies, (untersucht wurde 8 mal), eine deutliche Zellvermehrung (^{35} 3), aber nur eine schwach positive Globulinreaktion. Der Gesamteiweißgehalt war etwas vermehrt (^{1} 3 ^{0}/$_{00}$). Bei der vorletzten Untersuchung betrug die Zahl der Zellen ^{0} 3, die Globulinreaktionen waren negativ und der Gesamteiweißgehalt belief sich auf ^{1} 4 ^{0}/$_{00}$. Das Kaninchen zeigte bereits 8 Tage nach der ersten Zellvermehrung Krankheitserscheinungen (Apathie, Verminderung der Futteraufnahme, Durchfall). Bei weiteren 4 Untersuchungen (während 8 Tagen) betrug die Zellzahl ^{10} 3, ^{38} 3, ^{37} 3 und ^{36} 3. Bei der letzten Untersuchung war auch die Pandysche Reaktion ++ und der Gesamteiweißgehalt betrug ^{2} 3 ^{0}/$_{00}$. Das Kaninchen starb 26 Tage nach Feststellung der ersten Zellvermehrung.

Bei Kaninchen 4 (Nr. 110) erhöhte sich die Zahl der Zellen von ^{4} 3 auf ^{74} 3. Die Globulinreaktionen waren positiv. Der Gesamteiweißgehalt war auf ^{1} 4 ^{0}/$_{00}$ vermehrt. Am gleichen Tag war das Tier bereits klinisch krank, nach 18 tägiger Krankheit starb es. Bei der letzten Untersuchung betrug die Zellzahl ^{57} 3 und der Gesamteiweißgehalt ^{2}/$_{3}$ ^{0}/$_{00}$.

Der Liquorbefund des 5. Kaninchens (Nr. 112) war bei mehreren Kontrolluntersuchungen ebenfalls normal. Die Zellzahl betrug ^{6} 3, ^{10} 3, ^{15} 3, ^{14} 3 und ^{7} 3, Einmal stieg sie auf ^{30} 3, ohne daß eine Globulin- und Gesamteiweißvermehrung eintrat. Bei der letzten Untersuchung war die Zahl der Zellen ^{25} 3, die Pandysche Reaktion + und der Gesamteiweißgehalt geringgradig vermehrt (^{1}/$_{3}$ ^{0}/$_{00}$).

Bei der morphologischen Differenzierung der im Liquor von kokzidiosekranken Kaninchen gefundenen Zellen wurden nur kleine und große Lymphozyten festgestellt.

Man sieht im Hinblick auf die unter 3 und 4 angegebenen Fälle deutlich, wie Illert und Jahnel (1923) ausdrücklich betonen, daß bei den Uebertragungsversuchen auf das Z.N.S. des Kaninchens die Beurteilung der Liquorbefunde mit außerordentlich großer Vorsicht zu geschehen hat.

Hierbei verdient noch besonders hervorgehoben zu werden, daß für eine wirklich einwandfreie Verwertung der Liquorreaktion auch das klinische Bild in sorgfältiger Weise studiert werden muß. Bei meinen Untersuchungen habe ich deshalb den Verlauf der Krankheit bei den infizierten Kaninchen sehr genau verfolgt. Durch die angegebenen Kontrolluntersuchungen im Verein mit der klinischen Beobachtung kann man den Wert und die Zuverlässigkeit der Liquorbefunde bei den Uebertragungsversuchen sehr wesentlich erhöhen.

5. Liquorbefunde bei mit dem Virus der B.K. intrazerebral infizierten Kaninchen.

Insgesamt wurde der Liquor von 70 Kaninchen untersucht, die durch intrazerebrale Injektion mit 0,3 ccm virulenter Gehirnemulsion (Borna-Virus) infiziert worden waren und

deutliche Erscheinungen der B.K. aufwiesen. Die Untersuchungen wurden genau nach dem Untersuchungsplan durchgeführt (Tabelle 4).

Tabelle 4

Liquorbefunde bei 10 von insgesamt 70 untersuchten B.K.-Kaninchen.

	Kaninchen Nr.	Punktiert am	Lymphozyten klein	Lymphozyten groß	Lymphozyten Gesamt-Zahl	Globulinreakt. nach Pandy	Globulinreakt. nach Phase I	Globulinreakt. nach Weichbrodt	Gesamteiweiß ‰	Mastix-Lumbotestreaktion									
1	6090	9.VII.34	32	33	65	++	Opales		2	V	V	V	II	I	0	0	0		
2	6108	„	476	27	503	+++	„	„	$3^1/_4$	V	V	V	IV	II	I	0	0		
3	6153	17.VII.	142	21	163	++	„	„	$4^1/_4$	V	V	V	IV	II	II	0	0		
4	6147	12.VII.	186	50	236	+	Spur Opales.		$^1/_2$	V	II	II	I	I	0	0	0		
5	158	12.IX.	81	6	87	+++	Opales.		3	V	V	V	II	I	0	0	0		
6	6503	26.VI.	1025	47	1072	++	„	„	$1^1/_2$	V	V	V	II	I	0	0	0		
7	6642	28.VI.	126	32	158	+++	starke Opales.		4	V	V	V	V	V	III	III	II	I	0
8	6062	„	37	9	46	++	„	„	$6^1/_4$	V	V	V	V	V	III	III	II	I	0
9	5602	27.VI.	337	24	361	+	schw. Opales		$^1/_2$	V	V	II	I	0	0				
10	6149	17.VII.34	779	20	799	++	„	„	$^1/_2$	V	III	II	II	I	0	0	0		

a) Makroskopische und physikalisch-chemische Untersuchung des Liquors.

Der Liquor war bei infizierten Tieren immer vollkommen wasserklar, farblos und dünnflüssig wie ein normaler Liquor. Der pH-Wert wurde durch elektrometrische Messung nach Dr. Roeder bestimmt. Bei 21 Kaninchen wurde ein pH-Wert von 7,55—7,8 festgestellt. Demnach besteht gegenüber dem pH-Wert des normalen Liquors keine Abweichung.

Der Liquor muß unter allen Umständen sofort nach der Entnahme untersucht werden. So kann, wie dies bereits früher (vergl. Untersuchungsmethoden) dargelegt wurde, durch Stehen eine auffallend schnelle Zunahme des Alkaleszenzgrades sich ergeben, die zu irrigen Schlußfolgerungen führt.

b) Mikroskopische Untersuchung des Liquors:

Die Zellzahl. Bei sämtlichen Kaninchen wurde meist eine starke Vermehrung der Zellen festgestellt. Die Gesamtzahl der in 3 cmm Liquor enthaltenen Zellen betrug bei 70 Kaninchen durchschnittlich $^{294}/_3$. Sie belief sich im Höchstfalle auf $^{1072}/_3$, im niedrigsten Falle auf $^{38}/_3$. Die Zellzahl bewegte sich nur 12 mal unter $^{100}/_3$, während sie in den übrigen Fällen meist wesentlich höher war (26 mal über $^{300}/_3$ Zellen). Unter Zugrundelegung des Plautschen „Grenzwertes“ für das

gesunde Kaninchen (6—9 Zellen in 1 cmm *) sind meine Zellzahlen bei B.K. des Kaninchens auch in Fällen mit geringster Zellzahl ($^{35}/_{3}$) erhöht, demnach als pathologisch anzusehen.

Die morphologische Differenzierung der Zellen: Man findet im pathologischen Liquor überwiegend rundkernige, kleine Zellen (so groß oder kleiner wie Erythrozyten) mit einem sehr dünnen Protoplasmasaum. Ihr Kern färbt sich bei Anwendung der May-Grünwald-Giemsa-Farblösung fast immer sehr intensiv blau-violett, das Protoplasma dagegen etwas heller und bläulicher. Es handelt sich um kleine Lymphozyten (Plaut, Kafka und Rehm), die zu 88,05% der Gesamtzahl der festgestellten Lymphozyten vertreten waren. Die Durchschnittszahl für die kleinen Lymphozyten beträgt $^{259}/_{3}$ gegenüber einer durchschnittlichen Gesamtzahl an weißen Blutzellen von $^{294}/_{3}$.

Bei den pathologischen Prozessen im Liquor beobachtet man an den kleinen Lymphozyten fast immer Formveränderungen des Protoplasmaleibes, aber auch, allerdings seltener, solche des Kernes. Die Formveränderungen des Protoplasmas sind sehr mannigfaltig. Bestimmte Formen derartig veränderter Zellen sind mit gewisser Regelmäßigkeit bei den Untersuchungen festzustellen.

Bei manchen Zellen ist der Protoplasmaleib ausgezogen, sodaß ein Anhängsel an der Zelle zu sehen ist. Diese Zellen bezeichnet Rehm (1932) als „geschwänzte" kleine Lymphozyten. Bei anderen Zellen ist der Protoplasmaleib an einer Stelle geplatzt und das Plasma mehr oder weniger strahlenförmig ausgeflossen. Man sieht auch öfters aus dem Protoplasmaleib zahlreiche Fäden ausstrahlen. Nicht selten ist die Zelle ganz und gar zerfetzt und zertrümmert. Hin und wieder sind nur noch Kerne ohne Protoplasma vorhanden.

Der Kern der kleinen Lymphozyten ist meistens nicht verändert. Sein Umriß markiert sich jedoch nicht so scharf wie bei den Lymphozyten im Blut, er ist meistens schwer vom Zelleib zu unterscheiden. Starke Kernveränderungen wie Pyknose und Rhexis sind nicht feststellbar.

Die 2. Zellart, deren Zahl noch weit geringer wie die der kleinen Lymphozyten, ist durch die großen rundkernigen Zellen vertreten. Sie haben meistens exzentrische und manchmal auch randständige Kerne. Der Protoplasmaleib dieser Zellen ist wesentlich größer wie der der kleinen Lymphozyten. Diese Zellen sind groß (Plaut 1927; Kafka 1929; Rehm 1932). Ihr Anteil an der Gesamtzahl der Lymphozyten betrug 11,95% (durchschnittlich $^{35}/_{3}$), die Zahl der kleinen Lymphozyten dagegen durchschnittlich $^{259}/_{3}$. Man sieht bei diesen Zellen sehr

*) Für den menschlichen Liquor sind ebenfalls 6—9 Zellen als „Grenzwert" festgelegt (Kafka, 1929).

verschiedene Degenerationserscheinungen des Kernes und Protoplasmas: schollige Degeneration, Vakuolen- und Gitterbildung (Gitterzellen nach Rehm) sind öfters gesehene Veränderungen. Bei manchen Zellen (etwa 4—10 Zellen in 3 cmm) ist der Zelleib mit kleinsten, meist runden, manchmal aber auch mehr ovalen und eckigen, stark lichtbrechenden Körnchen übersät. Ob diese verschieden großen und verschieden gestalteten Körnchen ihren Ursprung aus dem Protoplasma oder aus dem Kern nehmen, ist im ungefärbten Präparat schwer nachweisbar. Im gefärbten Präparat gewinnt man mehr den Eindruck, daß sie Kernzerfallsprodukte darstellen, weil bei solchen Zellen der Kern schwer geschädigt ist und die bei der May-Grünwald-Giemsa-Färbung intensiv blau-violett gefärbten Körnchen nach ihrer Färbbarkeit sich eher wie Chromatin als Protoplasma verhalten. Das gefärbte Präparat ist insofern nachteilig, als die Körner ihren Glanz verlieren und hierdurch schwer erkennbar sind. Bei Nativpräparaten sind diese Körnchen gut, der Kern dagegen aber undeutlich zu sehen.

Rehm (1934) hat bei der Poliomyelitis im Zellbild, das nach der Alzheimer-Methode dargestellt wurde, kleine $^1/_2$ bis 2 μ große, meist runde, manchmal auch mehr ovale, stark lichtbrechende Körnchen beobachtet, die sich aber außerhalb von Zellen befinden. Er nennt diese Körnchen „Glanzkörperchen". Die „Glanzkörperchen" sind nach Rehm Zerfallsprodukte des Kernes der Zellen; sie bauen sich aus Chromatin auf. Außerdem kommen, jedoch in geringerer Zahl auch ähnliche Körnchen protoplasmatischer Herkunft vor. Wenn ich auch solche Körnchen außerhalb der Zellen nicht gesehen habe, so scheint mir doch ein Zusammenhang zwischen den Rehmschen „Glanzkörperchen" und den von mir beobachteten nicht ausgeschlossen zu sein. Auch bei den großen Lymphozyten sind geschwänzte Zellen und Zellen mit kleinen franzen-ähnlichen Plasmaausläufen und solche mit zerfetztem Plasmaleib öfters zu sehen. Die Kerne dieser mehr oder weniger mannigfaltig veränderten Zellen sind meistens pyknotisch und geschrumpft.

Auf Grund der Untersuchung zahlreicher Zellbilder kommt man zu dem Urteil, daß die rundkernigen großen Zellen (große Lymphozyten und auch einzelne Plasmazellen) leichter degenerieren als die kleinen Lymphozyten, deshalb ist eine so weitgehende Zelldifferenzierung wie bei Blutbildern nicht möglich, so daß eine Entscheidung der Frage, ob sich unter den großen rundkernigen Zellen auch Monozyten befinden, nicht zu treffen ist.

Die Zellen des Liquors sind häufig degeneriert, sie sind empfindlicher, leichter färbbar als die Zellen des Blutes. Jeder Liquor schädigt die in ihm enthaltenen Zellen und löst sie auf. Am schwersten und stärksten degenerieren Plasma- und polynukleäre Zellen (Szeczi 1910; Kafka, Weigeld 1923).

Kafka nimmt an, „daß die Ursache des Zugrundegehens der Liquorzellen im Liquor nicht in diesem, sondern in den Zellen zu suchen ist; der Zelleib dieser Zellen scheint so labil zu sein, daß er unter den verschiedenen Umständen extra corpus degeneriert".

Im direkten, mit Methylgrün-Pyronin oder nach May-Grünwald-Giemsa gefärbten Liquorausstrich ebenso in den mit dem histologischen Anreicherungsverfahren nach Alzheimer angefertigten Schnittpräparaten wurden polymorphkernige Leukozyten und Monozyten mit Sicherheit nicht festgestellt. Weiterhin konnten auch mit der Oxydase und Peroxydaseprobe positiv reagierende Zellen (polymorphkernige Leukozyten und Monozyten) nicht nachgewiesen werden. Die Ansicht von Joest, nach der im Liquor der Pferde bei der B.K. die Polyblasten (nach Naegeli ist die Bezeichnung Polyblasten eine Sammelbezeichnung für Lymphozyten und Monozyten) vorkommen, ist demnach nur hinsichtlich der Lymphozyten aufrecht zu erhalten.

Da die Zellen des kranken Liquors entweder aus der entzündeten Pia oder aus den perivaskulären Lymphräumen des Z.N.S. stammen (Bieling und Weichbrodt [1922], Plaut [1927], Pette [1932] und Rehm [1934]), wurde die Auffassung, daß polymorphkernige Leukozyten und Monozyten im Liquor nicht vorhanden sind, durch die Oxydasereaktion an Schnittpräparaten von 3 B.K. Kaninchen und einem Pferdehirn bekräftigt. Die Zellen der perivaskulären und meningealen Infiltrate reagieren sämtlich mit der Oxydaseprobe negativ. Meine Befunde an Zellen im Liquor der B.K. Kaninchen stimmen mit denen an perivaskulären adventitiellen Infiltratzellen der Gehirn- und Piagefäße vollkommen überein; hierdurch wird die heute allgemein geltende Auffassung, daß die Vermehrung der Zellen im Liquor, abgesehen von Blutungen und durchgebrochenen Gehirnabszessen, stets auf meningeale und perivaskuläre Infiltrate zurückzuführen ist, bestätigt.

Heute besteht auch kein Zweifel mehr daran, daß die sog. Virchow-Robinschen perivaskulären Lymphräume der Hirngefäße eine direkte Fortsetzung des Liquorsystems darstellen (Wustmann [1934], Weigeldt [1923]). Durch die arterielle Pulsation wird der Inhalt der Lymphräume (Lymphe und Zellen) in den Subarachnoidealsack befördert (Walter [1929]).

Zusammenfassung der Zellbefunde bei B.K. Kaninchen:

1) Bei 70 B.K.-Kaninchen wurde eine Vermehrung des Zellgehaltes festgestellt. Die Durchschnittszahl der Zellen betrug 294 in 3 cmm.

2) Die im Liquor dieser Kaninchen enthaltenen Zellen bestanden zu 88,05% der Gesamtzahl der Zellen aus kleinen und zu 11,95% aus großen Lymphozyten und vereinzelt aus Plasmazellen. Die Prozentzahl der kleinen Lymphozyten schwankte zwischen 76,8 und 100,0% der festgestellten Lymphozyten.

3. Im Liquor der B.K.-Kaninchen konnten weder polymorphkernige Leukozyten noch Monozyten nachgewiesen werden. Die Oxydase und Peroxydasereaktion waren in Liquorausstrich und Gehirnschnittpräparaten negativ.

4. Nach dem Zellbefunde besteht bei der B.K. des Kaninchens in der Hauptsache eine mehr oder weniger starke Lymphozytose der Zerebrospinalflüssigkeit.

5. Eine weitgehende Degeneration der Liquorzellen wurde in Uebereinstimmung mit früheren Beobachtungen (Kafka u.a.) fast immer ermittelt.

c. Chemische Untersuchung des Liquors:

Qualitative Globulinbestimmung.

Bei der Durchführung der Globulinreaktionen nach Pandy, Nonne-Appelt sowie Weichbrodt wurde eine regelmäßige, mehr oder weniger starke Vermehrung der Globuline im Liquor der B.K.-Kaninchen festgestellt.

Die Pandysche Reaktion fiel fast immer gleichzeitig mit dem Beginn der Zellvermehrung schwach positiv (+) aus (hohe Empfindlichkeit dieser Reaktion), während die Phase I (Nonne-Appelt) und die Weichbrodtsche Reaktion negativ waren. Mit dem Fortschreiten des Krankheitsprozesses im Z.N.S. stieg auch die Stärke der Reaktionen. Zwei bis vier Tage nach dem Beginn der Zellvermehrung geben auch die Phase I (Nonne-Appelt) und die Weichbrodtsche Reaktion einen positiven Ausfall (schwache Opaleszenz). Bei den fortgeschrittenen Krankheitsprozessen sind die Globulinreaktionen regelmäßig stark positiv (Pandy: + bis ++, Phase I und Weichbrodtsche Reaktion: Opaleszenz oder starke Opaleszenz).

Die Globulinreaktionen deckten sich hinsichtlich der Stärke nicht mit derjenigen der Zellvermehrung. Ich beobachtete immer Zellen, eine schwach positive Pandy-Reaktion (+), dagegen wieder bei verschiedenen Zellgehalten, z.B. bei $^{38}/_{3}$ und $^{400}/_{3}$ bei $^{40}/_{3}$ Zellen eine stärkere (Pandy ++) und ebenso bei $^{46}/_{3}$ Zellen eine noch stärkere Pandysche Reaktion (+ bis ++). Bei einem Zellgehalt von $^{38}/_{3}$ bis $^{400}/_{3}$ waren also die Globulinreaktionen sehr veränderlich, z.B. schwankte die Pandy-Reaktion bei einem Zellgehalt von 38 bis 400 Zellen zwischen (+) bis (++ bis +). Die Phase I (Nonne-Appelt) und die Weichbrodtsche Reaktion hatten die gleichen Ergebnisse. Die Globulinreaktionen hängen daher nicht von der Zellzahl ab.

Quantitative Gesamteiweißbestimmung.

Der nach der Salpeterschichtprobe festgestellte Gesamteiweißgehalt des Liquors ist bei B.K.-Kaninchen regelmäßig erhöht. Bei meinen Untersuchungen habe ich immer beim ersten positiven Ausfall der Pandyschen Reaktion auch bereits eine geringgradige Vermehrung des Gesamteiweißes ermittelt ($^1/_3$ ‰). Da ich im normalen Liquor niemals einen Gesamteiweißwert von $^1/_3$ ‰ festgestellt habe, so sah ich Werte unter $^1/_3$ ‰ als normal und bei Ausschluß einer Punktionsblutung solche über $^1/_3$ ‰ als pathologisch an. Werte von $^1/_2$ ‰ und darüber sind mit Sicherheit als positiv zu bewerten (Zaloziecki, 1913)*.

Der Durchschnittswert des Gesamteiweisses im Liquor von 50 B.K.-Kaninchen betrug 1·45 ‰. Der niedrigste Gesamteiweißwert betrug bei B.K.-Kaninchen $^1/_3$ ‰ (nur vier mal), der höchste 6·14 ‰ (nur 1 mal). Unter 1 ‰ bewegte sich der Gesamteiweißwert nur 13 mal, während er in den übrigen Fällen wesentlich höher war (16 mal über 2 ‰).

Im allgemeinen gehen die Globulin- und Gesamteiweißwerte parallel, so daß bei negativem Ausfall der Globulinreaktion auch auf einen normalen Wert des Gesamteiweißes geschlossen werden kann. Der schwach positive Ausfall (–) der Pandyreaktion beweist mit Sicherheit eine Gesamteiweißvermehrung von $^1/_3$ ‰ und etwas mehr.

Der Gesamteiweißgehalt ist wie der Globulingehalt unabhängig von dem Zellgehalt des veränderten Liquors.

d) Kolloidchemische Untersuchung.

Bei der Durchführung der Mastix-Lumbotest-Reaktion mit Liquor von B.K.-Kaninchen zeigten die ersten Gläser im Bereiche der höheren Liquorkonzentration eine starke Ausfällung (+++). Die Zahl der Gläser, in denen eine Ausfällung eintrat, war verschieden. Sie richtet sich offensichtlich nach dem Gehalt an pathologisch vermehrtem Globulin im untersuchten Liquor. Bei einer schwach positiven (±) Pandyreaktion zeigten nur das 1. und 2. Glas der Reihe mit einer Liquorverdünnung von $^1/_2$ und $^1/_4$, bei mittelstarker Reaktion (++) auch das 3. Glas (Verdünnung $^1/_8$) und bei starker Reaktion (+++) alle 4 Gläser (Verdünnung $^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_8$, $^1/_{16}$) eine starke Ausfällung (+++): Trübungsgrad V (vergl. S. 22).

Wie man an den Kolloidkurven sieht (Kurve 1), ist das kolloidchemische Verhalten des Liquors bei B.K.-Kaninchen nicht einheitlich. Während die frischen Stadien der Krankheit meist uncharakteristische Kolloidkurven aufwiesen, konnte

*) Zaloziecki (1913) und Grahe (1914) ermittelten diesen „Grenzwert" ($^1/_3$ ‰—$^1/_2$ ‰) auch für den menschlichen Liquor.

ich bei längerer Dauer wiederholt typische Paralysekurven ermitteln.

Kurve 1.

Mastix-Lumbotest-Kurven

bei gesunden und mit Borna-Virus infizierten Kaninchen.

—·— Kurve für normalen Liquor.

Kurven für Liquor von mit Borna-Virus infizierten Kaninchen (verschiedene Stärke der Mastix-Lumbotest-Reaktion)

— — Kurve für Pandysche Reaktion (+)
----- Kurve für Pandysche Reaktion (++) „Paralysekurve“
Kurve für Pandysche Reaktion (+++) „Paralysekurve“

6. Liquorbefunde bei 14 Kaninchen, die zur Ermittlung des zeitlichen Eintritts der Liquorveränderungen nach der Impfung intrazerebral mit dem Virus der B.K. geimpft worden waren.

Um festzustellen, wann die Liquorveränderung hinsichtlich ihres Zell-, Globulin- und Gesamteiweißgehaltes zeitlich nach der Infektion mit dem Virus der B.K. eintritt, impfte ich 14 Kaninchen, die bei den Kontrolluntersuchungen einen normalen Liquorbefund aufwiesen, intrazerebral mit dem Virus (0,3 ccm virulente Gehirnemulsion).

Wie aus den untersuchten Fällen sich ergibt, verläuft die Liquorveränderung hinsichtlich des Zell-, Globulin- und Gesamteiweißgehaltes bei den B.K.-Kaninchen ziemlich gleichmäßig. Deshalb möchte ich hier nur 2 typische Fälle kurz beschreiben:

Während bei einem am 6.VI.34 intrazerebral geimpften Kaninchen (Nr. 6091) die Zahl der Zellen in 3 cmm vor der Impfung (Kontrolluntersuchungen am 4.6.34 und 6.6.34) durchschnittlich $^{8}/_{3}$ betrug, stieg sie 20 Stunden nach der Impfung (am 7.6.34 auf $^{2599}/_{3}$. Am 8.6.34 betrug sie $^{989}/_{3}$ und sank in weiteren 5 Tagen ständig bis auf

17 3 Zellen (561 3, 12 3, 53 3, 46 3, 17 3). Am 17.6.34, also 7 Tage nach der Impfung, enthielt der Liquor wieder eine normale Zellzahl (17 3), nach weiteren 5 Tagen blieb sie in normalen Grenzen: 7 3, 13 3, 22 3, 12 3 und 17 3.

Am 24.6.34 zeigte das Tier bereits klinische Krankheitserscheinungen. Demnach ist beachtenswert, daß eine deutliche Zellvermehrung bereits 5 Tage vor der klinischen Erkrankung vorhanden sein kann.

Tabelle 5.

Liquorbefunde bei einem mit Borna-Virus infizierten Kaninchen Nr. 6091

(als Beispiel für 14).

Punktiert am	Lymphozyten klein	Lymphozyten groß	Pseudoeosinophile Leukozyten	Gesamtzahl der Zellen	Globulinreaktion Pandy	Phase I	Weichbrodt	Gesamteiweiß %	Mastix-Lumbotestreaktion							
2.VI.34	3	2		5	—	—	—	1/6	I	I	0	0	0	0		
4.	5	2		7	—	—	—	1/6								
6.	7	2		9	—	—	—	1/6								
7 VI.	850	502	1247	2599		schwache Opalesz.		1/2	II	II	I	0	0	0		
8.	413	564	8	989	+	„	„	1/2	II	II	I	0	0	0		
9.	122	237	2	361	+	—	—	1/2	II	II	I	0	0	0		
10.	80	46		126	Spur	—	—	1/3	I	0	0	0	0	0		
11.	17	68		58	±	—	—	1/5	I	0	0	0	0	0		
12.	32	14		46	±	—	—	1/4								
13.	14	3		17	+	—	—	1/4								
14.	4	3		7	—	—	—	1/4								
15.	7	6		13	—	—	—	1/4								
16.	18	4		22	—	—	—	1/4								
17.	7	5		12	—	—	—	1/4								
18.	11	6		17	—	—	—	1/4								
19.	89	47		136	+	—		1/3	I	I	0	0	0	0		
20.	114	52		166	+	—		1/3	II	I	I	0	0	0		
22.	365	133		498		schwache Opalesz.		1/2	IV	III	I	I	0	0		
24.	198	33		231	+	„		1/2	IV	IV	I	I	0	0		
26.	201	45		246	+	„		2/3	V	V	I	I	0	0	0	0
29.	208	84		262	++	Opalesz.		1 2/3	V	V	V	I	I	0	0	0
4.VII.34	213	16		247	++	„	„	2 2/3	V	V	V	I	I	0	0	0

Die morphologische Differenzierung der Zellen ergab stets bei der am ersten Tag nach der i. z. Injektion auftretenden Zellvermehrung ein für die B.K. ungewöhnliches Zellbild. Hier wurden nämlich pseudoeosinophile polymorphkernige Leukozyten, die 48% der Gesamtzellzahl ausmachten, festgestellt. Die übrigen Zellen waren kleine und große Lymphozyten.

Am 2. Tag betrug die Zahl der pseudoeosinophilen Zellen nur 1% und am 3. Tag konnten nur noch 2 Zellen nachgewiesen werden, am 4. Tag waren keine mehr vorhanden.

Die pseudoeosinophilen Zellen wurden an den übrigen Untersuchungstagen niemals beobachtet.

Die bei den Kontrolluntersuchungen vor der Impfung negativ ausgefallenen Globulinreaktionen zeigten am 7.6.34 einen schwach positiven Ausfall (Pandyreaktion: , Phase I: Nonne-Appelt und Weichbrodtreaktion: Schwache Opaleszenz); dabei war auch der Gesamteiweißgehalt auf $^1/_2$‰ gestiegen. Am 9.6. und 10.6.34 war nur noch die Pandyreaktion schwach positiv (und Spur), die Phase I (Nonne-Appelt) und die Weichbrodtsche Reaktion negativ. Der Gesamteiweißgehalt blieb am 9.6.34 auf $^1/_2$, sank aber am 10.6 auf $^1/_4$‰. Nach weiteren 2 Tagen (am 11.6. und 22.6.34) waren die Pandysche Reaktion ±, die Phase I (Nonne-Appelt) und die Weichbrodtsche Reaktion negativ und der Gesamteiweißgehalt normal ($^1/_4$-$^1/_4$‰).

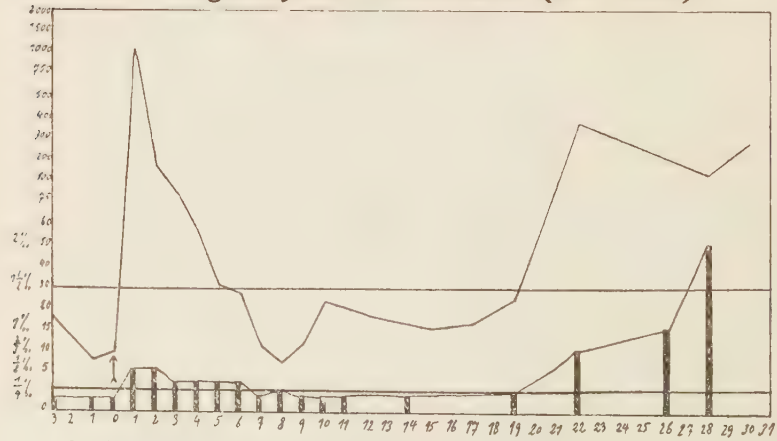
Während der Zeit, in der der Zellgehalt im Liquor normal war (vom 13.6.-18.6.34), fielen sämtliche Globulinreaktionen auch negativ aus, der Gesamteiweißgehalt war normal (unter $^1/_3$‰).

Mit der erneuten Zellvermehrung am 19.6.34 stiegen auch der Globulin- und Gesamteiweißgehalt des veränderten Liquors ständig und zwar die Globulinreaktionen bis und der Gesamteiweißgehalt auf $2^2/_3$‰.

Das kolloidchemische Verhalten des Liquors entsprach den Globulin- und Gesamteiweißbefunden und zeigte bei den beiden letzten Punktionen am 29.9.34 und 4.7.34 eine typische Paralysekurve (vergleiche Kurve 1).

Kurve 2.

Verhalten der Zellzahl und des Gesamteiweißgehalts im Liquor von mit Borna-Virus intrazerebral geimpften Kaninchen (Nr. 6088).



Bei den histologischen Untersuchungen des Gehirns konnten eine perivaskuläre und meningeale Infiltration, sowie Joest-Degensche Körperchen im Kern der Ganglienzellen nachgewiesen werden (Tabelle 5).

Bei einem weiteren Kaninchen (Nr. 6088) stieg die Zellzahl, die bei den Kontrolluntersuchungen normal war ($^{17}/_{3}$, $^{7}/_{3}$, $^{9}/_{3}$), einen Tag nach der Impfung, am 7.6.34, auf $^{1197}/_{3}$. Von diesen Zellen waren fast 50 % pseudoeosinophile, polymorphkernige Leukozyten. Die Zellzahl sank nach weiteren 6 Tagen auf $^{11}/_{3}$, Zellen ($^{161}/_{3}$, $^{83}/_{3}$, $^{56}/_{3}$, $^{29}/_{3}$, $^{20}/_{3}$ und $^{11}/_{3}$). Am 2. Tag konnten nur noch 2 pseudoeosinophile Zellen festgestellt werden. Bei den übrigen Untersuchungen waren überhaupt keine mehr vorhanden.

Während der weiteren 12 Tage (vom 13.6 bis 25.6.1934) war die Zellzahl normal.

Am 28.6.34 (21 Tage nach der Impfung) stieg die Zahl der Zellen erneut auf $^{335}/_{3}$. Die Zellvermehrung dauerte bis zum Tod des Kaninchens (am 6.6.34) an. Am 4.7.34 wurden $^{102}/_{3}$ und am 6.7.34 $^{299}/_{3}$ Zellen festgestellt (vergl. Kurve Nr. 1).

Bei diesem Kaninchen konnten am 4.7.34 klinisch typische Erscheinungen der BK. festgestellt werden; die Zellvermehrung war schon am 28.6.34 vorhanden, demnach bereits 7 Tage früher.

Während der ersten Zellvermehrung im Anschluß an die intrazerebrale Impfung waren die Globulinreaktionen, besonders aber die Pandysche Reaktion schwach positiv ( ) und der Gesamteiweißgehalt geringgradig vermehrt ($^{1}/_{3}$ ‰—$^{1}/_{2}$ ‰). Dagegen fielen die entsprechenden Reaktionen während der Zeit des Auftretens der normalen Zellzahl (12 Tage) ebenfalls wieder normal aus (unter $^{1}/_{3}$ ‰). Bei der 2. (spezifisch krankhaften) Vermehrung der Zellen wurden die Globulinreaktionen positiv (Pandy ... und ++; Phase I (Nonne-Appelt) und Weichbrodt: Opaleszenz) und der Gesamteiweißgehalt vermehrt (von $^{2}/_{3}$ ‰ bis 2 ‰). Die letzte Mastix-Lumbotestreaktion ergab eine Paralysekurve (vgl. Kurve Nr. 2).

Im histologischen Bild wurden meningeale und perivaskuläre Infiltrate festgestellt.

Zusammenfassend ergibt sich, daß bei den Kontrolluntersuchungen von gesunden Kaninchen die Zellzahlen immer normal waren ($^{7}/_{3}$-$^{17}/_{3}$), die Globulinreaktionen negativ ausfielen und der Gesamteiweißgehalt normale Werte aufwies.

Während der ersten, gleich nach der intrazerebralen Impfung entstandenen, auf die Injektion zurückzuführenden Zellvermehrung (1000-5000 Zellen) erreichten die Zellkurven in der Regel nach 20 Stunden den Höhepunkt, um allmählich abzunehmen und nach 5-6 Tagen zur Norm abzufallen (vgl. Kurve 1). Die Globulinreaktionen waren am 1. und 2. Tag nach der Impfung schwach positiv [Pandysche Reaktion: +, Phase I (Nonne-Appelt) und Weichbrodtsche Sublimatreaktion: Schwache Opaleszenz], der Gesamteiweißgehalt war entsprechend geringgradig vermehrt ($^{1}/_{2}$ ‰). Weiterhin sanken die Zellzahlen am 3., 4., 5. und 6. Tag allmählich ab. In diesen Tagen war nur die Pandyreaktion schwach positiv: Spur (Ausdruck ihrer hohen Empfindlichkeit). Dagegen waren die Phase I (Nonne-Appelt) und die Weichbrodtsche Reaktion negativ (scharfe Grenze zwischen normalem und pathologischem Liquor). Der Gesamteiweißgehalt betrug $^{1}/_{3}$ ‰).

Die Kolloidkurven verhielten sich zuerst normal, bei der ersten Zellvermehrung zeigten das 1. und 2. Röhrchen den Trübungsgrad 2, der mit dem Zurückgehen der Zellvermehrung wieder normal wurde.

Nach dieser ersten Zellvermehrung trat ein normaler Zustand des Liquors ein, der 6 bis 12 Tage dauerte.

Bei der zweiten durch das Virus der B.K. hervorgerufenen Liquorveränderung trat die Zell-, Globulin- und Gesamteiweißvermehrung des Liquors durchschnittlich 17 Tage nach der Impfung auf, während vorher vollkommen normale Verhältnisse herrschten. Die Zellvermehrung war immer das erste und sichere Zeichen der entzündlichen Reaktion des Z.N.S.

Die Zeit des Eintritts der Liquorveränderungen in oben erwähntem Sinne ist individuell verschieden. Deshalb konnte ich bei einem Kaninchen schon 11 Tage nach der Impfung und bei einem weiteren nach 13 Tagen, dagegen bei einem 3. Kaninchen erst 25 Tage nach der Impfung eine krankhafte Zellvermehrung feststellen. Die 2. Zellvermehrung stellte sich fast immer innerhalb eines Zeitraumes von 1-7 Tagen vor den klinischen Krankheitserscheinungen ein. Nur einmal ermittelte ich bei einem Kaninchen (Nr. 6019) eine Zellvermehrung erst 4 Tage nach den ersten Krankheitserscheinungen. Dabei war zu beobachten, daß die bei der zweiten Zellvermehrung festgestellten Zellzahlen niemals so hoch wie bei der ersten unspezifischen Zellvermehrung waren, dagegen waren der Globulin- und der Gesamteiweißgehalt bei der zweiten (spezifischen) Zellvermehrung wesentlich höher als bei der ersten.

7. Liquorbefunde bei den Kaninchen, die zur Ermittlung der Ursachen und der Natur der gleich nach der intrazerebralen Impfung auftretenden Liquorveränderungen geimpft worden waren.

a) Um zu beweisen, daß die erste, gleich nach der intrazerebralen Impfung zustande kommende Liquorreaktion im Sinne von Plaut (1926) und im Gegensatz zu Nicolau und Kopciowska (1931), auf den Fremdkörperreiz der injizierten Flüssigkeiten zurückzuführen ist, impfte ich 2 Kaninchen intrazerebral mit einer Aufschwemmung von Normalgehirn (von einem getöteten gesunden Kaninchen frisch entnommen) in physiologischer Kochsalzlösung; Menge und Konzentration der Aufschwemmung entsprachen den bei den Impfungen mit Borna-Virus üblichen Verhältnissen.

Der Liquor dieser Tiere wurde (wie bei allen anderen Versuchen) zuerst zweimal vor dem Versuch kontrolliert. Die Zellzahl betrug $^{10}/_{3}$ und $^{5}/_{3}$, die Globulinreaktionen waren negativ, der Gesamteiweißgehalt betrug $^{1}/_{6}$ ‰.

Tabelle 6.

Liquorbefunde nach intrazerebraler Injektion von 0,3 ccm Normalgehirn-Aufschwemmung.

Kaninchen Nr. 6096 (als Beispiel für 2 Untersuchungen).

Punktiert am	Lymphozyten klein	Lymphozyten groß	Pseudoeosinophile Leukozyten	Gesamtzahl der Zellen	Globulinreaktionen Pandy	Phase I	Weichbrodt	Gesamteiweiß %	Mastix-Lumbotest-Reaktion					
4.VI.34	2	1		3	—	—	—	1/6	I	I	0	0	0	0
6. „ „	4	1		5	—	—	—	1/6	I	I	0	0	0	0
7. „ „	925	593	1344	2862	±	schwache Opalesz.		1/2	II	II	1	0	0	0
8. „ „	420	244	8	672	±	„	„	1/2	II	II	1	0	0	0
9. „ „	153	124		277	Spur	„	„	1/2	II	II	1	0	0	0
10. „ „	82	29		111	±	—	—	1/3	II	II	1	0	0	0
11. „ „	33	21		54	+	—	—	1/3	II	I	1	0	0	0
12. „ „	23	11		34	Spur	—	—	1/3	I	I	0	0	0	0
13. „ „	21	6		27	—	—	—	1/4	I	I	0	0	0	0
14. „ „	14	7		21	—	—	—	1/4	I	I	0	0	0	0
18. „ „	2	8		10	—	—	—	1/6						
21. „ „	5	7		12	—	—	—	1/5	I	I	0	0	0	0
25. „ „	3	5		8	—	—	—	1/4						
28. „ „	13	7		20	—	—	—	1/5	I	I	0	0	0	0
4.VII.	7	2		9	—	—	—	1/3						
9. „ „	5	6		11	—	—	—	1/5						
23. „ „	6	1		7	—	—	—	1/4						
12.VIII.	3	2		5	—	—	—							

Die Zahl der Zellen erhöhte sich 20 Stunden nach der Impfung beim 1. Kaninchen (Nr. 6096) auf 2862/3 und bei dem 2. (Nr. 6097) auf 827/3. Beim 1. Kaninchen ging die Zellzahl in 6 Tagen allmählich zurück (672/3, 277/3, 111/3, 54/3, 34/3, 27/3 und 21/3), beim 2. in gleicher Weise innerhalb 5 Tagen (150/3, 72/3, 79/3, 63/3, 70/3 und 14/3).

Bei den weiteren Untersuchungen (während 44 Tagen) wiesen die Zellen eine normale Zahl auf.

Die Globulinreaktionen waren vom 1. bis 2. und 3. Tag der Zellvermehrung schwach positiv (Pandyreaktion: ±, Phase I (Nonne-Appelt) und Weichbrodtsche Reaktion: Schwache Opaleszenz). Weiterhin war nur die Pandyreaktion positiv, solange die Zellvermehrung bestand. Bei den folgenden Untersuchungen fielen die Globulinreaktionen negativ aus. Der Gesamteiweißgehalt betrug während der ersten 3 Tage nach der Impfung 1/2 ‰, während weiterer 3 Tage 1/3 ‰ und war dann immer normal. (Tabelle 6, Kurve 3, S. 46).

Plaut (1926) hat nach der suboccipitalen Injektion von 0,5 cmm physiologischer Kochsalzlösung und von infek-

tiösem Material in den Subduralraum eine Zellvermehrung im Liquor beobachtet. Die Zellkurve erreichte etwa 20 Stunden nach der Injektion ihren Höhepunkt und wurde nach 5-6 Tagen wieder normal. Er bezeichnet diese Liquorveränderungen als einen rein reaktiven Prozeß und betont, daß diese Art Zellvermehrungen sich sehr schnell entwickeln, aber auch im allgemeinen nach wenigen Tagen wieder abklingen kann.

Nach Nicolau und Kopciowska (1931) findet 62 Stunden nach der subduralen Impfung mit Herpes-Virus eine Zellvermehrung im Liquor statt. Die Zellen bestehen nach den Autoren aus polynukleären Leukozyten. Am 3. Tag erscheinen mononukleäre Zellen (Lymphozyten und Monozyten). Am 4. Tag ist die Zahl der mononukleären Zellen größer als die der polynukleären, am 5. Tag wird die Zahl der letzteren geringer. An ihrer Stelle erscheinen mononukleäre Zellen. Nach Nicolau und Kopziowska haben die polynukleären Zellen wahrscheinlich die Aufgabe die durch die Impfung im Liquor auftretenden virulenten Partikelchen aufzunehmen.

b) Um den Einfluß der 0,85%igen physiologischen Kochsalzlösung, die bei den Aufschwemmungen der Ge-

Tabelle 7.

Liquorbefunde nach intrazerebraler Injektion von 0,3 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

Kaninchen Nr. 6098 (als Beispiel für 3 Untersuchungen).

Punktiert am	Lymphozyten klein	Lymphozyten groß	Pseudoeosinophile Leukozyten	Gesamtzahl der Zellen	Globulinreaktion Pandy	Globulinreaktion Phase I	Globulinreaktion Weichbrodt	Gesamteiweiß %	Mastix-Lumbotestreaktion					
2.VI.34	4	3		7	—	—	—	1/6	I	I	0	0	0	0
6. „ „	9	3		12	—	—	—	1/6						
7. „ „	2738		2340	5078	+	schwache Opalesz.		1/2	II	II	I	0	0	0
8. „ „	480	340	7	827	+	—	—	2/3	II	I	II	0	0	
9. „ „	114	98		212	±	—	—	1/4	I	I	0	0	0	0
11. „ „	29	25		54	—	—	—	1/6	I	I	0	0	0	0
13. „ „	18	21		39	—	—	—	1/5						
18. „ „	9	7		16	—	—	—	1/6						
21. „ „	1	1		2	—	—	—	1/6						
26. „ „	3	5		8	—	—	—	1/4						
28. „ „	18	11		29	—	—	—	1/5	I	I	0	0	0	0
9. „ „	11	4		15	—	—	—	1/5						
23. „ „	12	4		16	—	—	—	1/4						
7. „ „	3	3		6	—	—	—	1/4						
13. „ „	6	—		6	—	—	—	1/4						
18. „ „	6	3		9	—	—	—							
19. „ „	1	—		1	—	—	—							

hirne verwendet wurde, auf das Z.N.S. feststellen zu können, impfte ich 3 Kaninchen intrazerebral mit 0,3 ccm physiologischer Kochsalzlösung intrazerebral.

Nach 20 Stunden war die Zellzahl bei diesen Kaninchen sehr stark erhöht. Bei dem ersten Kaninchen erreichte die Zellvermehrung eine bis jetzt noch nicht beobachtete Höhe nämlich $^{10360}/_{3}$. Der Liquor war stark trüb. Beim 2. Kaninchen (Nr. 6098) betrug die Zellzahl $^{5078}/_{3}$ beim 3. $^{5340}/_{3}$. Am 2. Tag gingen die Zellzahlen wesentlich zurück auf $^{2304}/_{3}$, $^{827}/_{3}$ und $^{1025}/_{3}$. Das 1. Kaninchen wurde zur histologischen Untersuchung des Gehirns am 2. Tag getötet. Der histologische Befund ergab eine ziemlich starke Infiltration der Leptomeningen, die die oben beschriebene starke Zellvermehrung verursacht haben dürfte. Perivaskuläre adventitielle Infiltrate wurden nicht nachgewiesen.

Die Zellzahlen gingen bei den Kaninchen 2 und 3 in den folgenden Tagen zurück und zwar bei dem Kaninchen 2 nach 6 Tagen, beim 3. dagegen schon nach 3 Tagen, obwohl bei diesem Kaninchen am 1. Tag $^{5340}/_{3}$ Zellen gezählt worden waren. Der Zellgehalt wurde also im Liquor bei dem 2. Kaninchen 6 Tage, beim 3. Kaninchen 3 Tage nach der Impfung normal.

Die Zellzahl blieb bei den weiteren Untersuchungen dieser Tiere während 38-46 Tagen immer normal.

Von den Globulinreaktionen war die Pandysche Reaktion beim 1. Kaninchen, das die stärkste Zellvermehrung hatte, am ersten Tag mittelstark positiv (++), am 2. Tag wieder schwach positiv (+); die Phase I (Nonne-Appelt und die Weichbrodtsche Reaktion wiesen schwache Opaleszenz auf. Beim 2. und 3. Kaninchen war dagegen die Pandysche Reaktion schwach positiv (+) bis zum Abklingen der Zellreaktion. Sobald normale Zellzahlen ermittelt wurden, fielen auch die Globulinreaktionen negativ aus.

Der Gesamteiweißgehalt betrug am 1. Tag der Zellvermehrung $^{1}/_{2}$ ‰, erhöhte sich beim 1. und 2. Kaninchen am 2. Tag auf $^{2}/_{3}$ ‰ und sank beim 3. Kaninchen auf $^{1}/_{3}$ ‰. Er wurde bei den folgenden Untersuchungen ebenfalls normal.

Die Kolloidkurven waren nicht wesentlich verändert. Das 1. und 2. Röhrchen zeigte 20 Stunden nach der Impfung eine geringgradige Trübung (Trübungsgrad 2), die nur 2 Tage dauerte. Sonst waren die Reaktionen bei den folgenden Untersuchungen normal.

c) Zur Prüfung der Frage, ob die Durchbohrung des Schädeldaches und der Stich mit der sterilen Punktionsnadel ins Großhirn (in der gleichen Weise wie bei der intrazerebralen Impfung) auch auf die Entstehung der nach der Impfung beobachteten Zell-, Globulin- und Gesamteiweißvermehrung einen Einfluß ausüben, wurde bei 2 Kaninchen ein entsprechender Versuch angestellt.

Im Liquor dieser beiden Kaninchen konnten vor und nach der oben beschriebenen Operation Veränderungen nicht festgestellt werden. Demnach hat der Gehirnstich mit steriler Punktionsnadel an und für sich keinen Einfluß auf die Entstehung der Liquorveränderung, die gleich nach der Impfung beobachtet wurde.

Zusammenfassung der Ergebnisse der 3 Versuche:

1) Durch die intrazerebrale Injektion von 0,3 ccm einer Aufschwemmung von normalem Gehirn in physiologischer Kochsalzlösung, ferner durch die gleiche Injektion von 0,3 ccm physiologischer Kochsalzlösung ohne Gehirnbestandteile wurde eine sehr starke Zellvermehrung im Liquor verursacht.

2) Die Zellkurve erreichte in der Regel nach etwa 20 Stunden ihren Höhepunkt und fiel allmählich fortschreitend ab. Sie bewegte sich nach 5-6 Tagen in normalen Grenzen.

Dieselbe Zellkurve wurde auch, soweit der Anfangsteil in Frage kommt, bei der 1. Zellvermehrung der mit dem Virus der B.K. geimpften Kaninchen ermittelt (vgl. Kurve Nr. 3).

3) Von den 20 Stunden nach der intrazerebralen Injektion gefundenen weißen Zellen waren 45-48% pseudoeosinophile polymorphkernige Leukozyten, die am 2. Tag auf 1% sanken und am 3. Tag nicht mehr vorhanden waren.

4) Diese starke Zellvermehrung wurde von einer verhältnismäßig geringgradigen Globulin- und Gesamteiweißvermehrung begleitet.

5) Die mikroskopische Untersuchung des Gehirns eines 2 Tage nach der Injektion (mit physiologischer Kochsalzlösung) getöteten Kaninchens ergab eine meningeale Reizung in Form einer Infiltration der Piamaschen mit vorwiegend rundkernigen Zellen (Lymphozyten und — vereinzelt — Plasmazellen).

6) Durch die Durchbohrung des Schädeldaches und nachfolgendes Anstechen der Großhirnrinde mit der sterilen Punktionsnadel wurden keine Liquorveränderungen verursacht.

7) Diese Versuche zeigten eindeutig, daß die gleich nach der intrazerebralen Impfung entstandene Liquorveränderung, besonders aber die sehr starke Zellvermehrung unspezifischen Charakter hat und in der Hauptsache durch die physiologische Kochsalzlösung hervorgerufen wird (Fremdkörperreiz).

8) Die von Nicolau und Kopciowska als für die Herpesencephalitis spezifisch angegebene Zellvermehrung ist, soweit die Anfangsvermehrung in Frage kommt, ebenfalls auf die (subdurale) Injektion zurückzuführen.

8. Untersuchung des Liquors bei intranasal infizierten Kaninchen.

Um den Liquor bei der B.K. der Kaninchen, die auf einem anderen Infektionsweg als auf dem der intrazerebralen

Injektion hervorgerufen worden war, studieren zu können, wurden 3 Kaninchen am 28.8.34 intranasal infiziert.

Das Kaninchen Nr. 6585 hatte vor der intranasalen Infektion einen normalen Liquor. Auch an den folgenden Untersuchungstagen (von 30.8.34—13.10.34) zeigte der Liquor keine Veränderungen. Der letzte Zellbefund am 13.10.34 ergab $^{13}/_{3}$ ‰ Zellen und negative Globulinreaktion. Der Gesamteiweißgehalt betrug $^{1}/_{5}$ ‰.

Erst am 15.10.34, also 48 Tage nach der Infektion, ermittelte ich eine Zellvermehrung im Liquor. Die Zahl der Zellen betrug $^{107}/_{3}$. Die Pandysche Reaktion war schwach positiv, die Phase I (Nonne-Appelt) und die Weichbrodtsche Sublimatreaktion negativ; der Gesamteiweißgehalt war auf $^{1}/_{2}$ ‰ erhöht. Das Kaninchen wies klinisch keinerlei Krankheitserscheinungen auf.

Die Zellzahl war am 17.10.34 auf $^{203}/_{3}$ gestiegen. Der Gesamteiweißgehalt betrug $^{2}/_{3}$ ‰. (Pandyreaktion [+], Phase I [Nonne-Appelt] und die Weichbrodtsche Reaktion: schwache Opaleszenz).

An diesem Tage zeigte das Kaninchen bereits Krankheitserscheinungen, wie sie für den Anfang der B.K. charakteristisch sind (Schlafsucht, Freßunlust, beginnende Parese der Hinterhand). Demnach trat die erste Zellvermehrung schon 2 Tage vorher ein. Bei der letzten Untersuchung vor dem Verenden des Tieres ergab sich folgender Liquorbefund: Zellzahl $^{131}/_{3}$, Pandyreaktion (++), Phase I (Nonne-Appelt), sowie Weichbrodtsche Sublimatreaktion: Opaleszenz, Gesamteiweißgehalt $1^{2}/_{3}$ ‰.

Bei der letzten Untersuchung ergab die Kolloidreaktion eine Paralysekurve (starke Ausfällung [++++] im 1., 2. und 3. Röhrchen) (vergl. Kurve 2).

Nach einer 6-tägigen Krankheitsdauer (vom 17.10.34 bis 23.10.34) starb das Kaninchen.

Der Sektionsbefund ergab eine hochgradige Abmagerung; an den Organen waren makroskopische Veränderungen nicht vorhanden.

Histologischer Befund des Gehirns: starke vaskuläre und perivaskuläre Zellinfiltration der kleinen Gefäße im Gehirn (Lymphozyten, Plasmazellen); weiterhin bestand eine Meningitis. Einschlußkörperchen konnten mit Sicherheit nicht festgestellt werden. Nach dem Gesamtbefund besteht jedoch kein Zweifel, daß B.K. bei diesem Tier vorlag.

Der Liquor des Kaninchens Nr. 6586 war bei der Kontrolluntersuchung und während der auf die intranasale Infektion folgenden Wochen (vom 30.8.34 bis 29.9.34) normal. Die letzte Untersuchung am 29.9.34 ergab: Zellzahl $^{11}/_{3}$, Globulinreaktionen negativ, Gesamteiweißgehalt $^{1}/_{4}$ ‰.

Die erste deutliche Zellvermehrung des Liquors trat am 4.10.34 ein ($^{171}/_3$), die von einer schwach positiven Globulinreaktion begleitet wurde (Pandyreaktion: +, Phase I: (Nonne-Appelt) und Weichbrodtsche Reaktion: Spur Opaleszenz, Gesamteiweißgehalt $^1/_2$ ‰.

Am 6.10.34 war das Untersuchungsergebnis folgendermaßen: Zellzahl $^{222}/_3$, Pandyreaktion: —, Phase I (Nonne-Appelt) und Weichbrodtsche Reaktion: schwache Opaleszenz, Gesamteiweißgehalt $^2/_3$ ‰. An diesem Tag zeigte das Kaninchen klinisch bereits die Anfangssymptome der B.K. (Schläfrigkeit, Freßunlust).

Vom 9.10.34 bis zur Tötung des Kaninchens (in schwerkrankem Zustande am 23.10.34) wurde der Liquor 6 mal untersucht.

Die Zellzahlen waren $^{526}/_3$, $^{251}/_3$, $^{86}/_3$, $^{111}/_3$, $^{184}/_3$, $^{35}/_3$, Ergebnis der Globulinreaktionen: Pandysche Reaktion schwankte zwischen + und +++, Phase I (Nonne-Appelt) und Weichbrodische Reaktion: Opaleszenz; Gesamteiweißgehalt: $1^1/_6$ ‰, $1^1/_6$ ‰, $^2/_3$ ‰, $1^2/_3$ ‰ und $1^2/_3$ ‰.

Bei der kolloidchemischen Untersuchung trat im 1., 2. und 3. Röhrchen eine starke Ausfällung (+++) ein (Paralysekurve).

Am 9.10.34, 42 Tage nach der Infektion und 5 Tage nach der ersten Zellvermehrung zeigte das Tier charakteristische Erscheinungen der B.K. (Bewußtseinsstörungen, pendelnde Kopfbewegungen, Manegebewegung, typische Haltung des Kopfes, Parese der Hinterhand, Kreuzstellung der vorderen Extreminitäten, Herabsetzung der Reflexe, Abmagerung).

Sektionsbefund: Hochgradige Abmagerung, sämtliche Organe waren makroskopisch nicht verändert.

Histologischer Befund: Im Gehirn fanden sich vaskuläre und perivaskuläre Zellinfiltrate, außerdem bestand eine Meningitis; Bornakörperchen wurden festgestellt.

9. Pathologisch-histologische Befunde bei Gehirnschnitten von 129 an B.K. (intrazerebrale, intramuskuläre und intranasale Infektion) verendeten Kaninchen.

Die Erhöhung des Zellgehaltes im Liquor ist, abgesehen von Blutungen und Hirnabszessen, stets auf meningeale Entzündungen, ferner auf perivaskuläre Infiltration des Gehirns zurückzuführen (Bieling und Weichbrodt, 1922; Plaut 1927; Pette 1932; Seifried 1927; Kafka 1927 und Rehm 1934). Daher veranlaßten mich meine Befunde, die stets im Liquor der B.K. Kaninchen eine Zellvermehrung ergaben, die Stärke der Beteiligung der Meningen, an der entzündlichen Reaktion des Gehirns bei der B.K. des Kaninchens histologisch zu untersuchen.

Die Gehirnschnitte von 129 B.K.-Kaninchen (4 intramuskulär, 2 intranasal und 123 intrazerebral infiziert) zeigten bei 122 Kaninchen stets eine mehr oder weniger ausgeprägte Meningitis. Vaskuläre und perivaskuläre Rundzelleninfiltrate waren stets vorhanden.

Bei 17 mit Borna-Virus intrazerebral und 2 intranasal geimpften Kaninchen wurden die Liquorbefunde und die Ergebnisse der histologischen Untersuchung der Hirnschnitte verglichen. Hierbei zeigte sich, daß die Liquorreaktion mit der Stärke der Veränderungen im Gehirn parallel geht.

E. Kritische Besprechung der Gesamtergebnisse.

Die Entnahme des Liquors beim lebenden Kaninchen durch vorschriftsmäßige Suboccipitalpunktion nach Plaut gelingt bei genügender Übung und Erfahrung einwandfrei. Wenn steril gearbeitet wird, können die Tiere jeden Tag punktiert werden. Täglich wiederholte Punktionen haben, wenn beim Einstich eine Blutung in den Subarachnoidealraum nicht eingetreten ist, auf die Zellzahl, sowie den Globulin- und Gesamteiweißgehalt des Liquors keinen nachteiligen Einfluß.

Zur einwandfreien Verwertung der Liquorbefunde muß man 1.) die Untersuchungen mit geeigneten zuverlässigen Methoden streng nach dem Untersuchungsplan durchführen, 2.) muß man auch das klinische Bild der Krankheit in sorgfältigster Weise beobachten.

Die Methoden der Bestimmung des Wasserstoffexponenten im Liquor nach Dr. Roeder, der Zellzählung nach Fuchs-Rosenthal, der Zell-Differenzierung nach Szésci (Färbung mit May-Grünwald-Giemsa-Lösung), der Globulinbestimmung nach Nonne-Appelt (Phase I), nach Pandy und nach Weichbrodt und der quantitativen Gesamteiweißbestimmung nach Brandberg-Zaloziecki, sowie der kolloidchemischen Reaktion nach Emanuel-Rosenfeld (Mastixlumbotestreaktion) gestatten eine einwandfreie und zuverlässige Untersuchung des Liquors der Kaninchen.

Die Untersuchung des Liquors von klinisch gesunden Kaninchen ergab stets Werte, die innerhalb der als normal angesehenen Grenzen schwanken: Zellzahl 1-15 Zellen in 3 cmm (kleine und große Lymphozyten), die Globulinreaktionen fielen negativ aus, der Gesamteiweißgehalt betrug: $^1/_6$—$^1/_4$ ‰; die kolloidchemischen Reaktionen waren negativ. Meine Befunde stimmen mit denen von Plaut (1921), Kasahara (1923) ermittelten überein.

An Spontanencephalitis erkrankte Kaninchen wurden beachtenswerter Weise nicht ermittelt. Dagegen ließen ein mit Ohrräude behaftetes Kaninchen, das klinisch schiefe Kopfhaltung

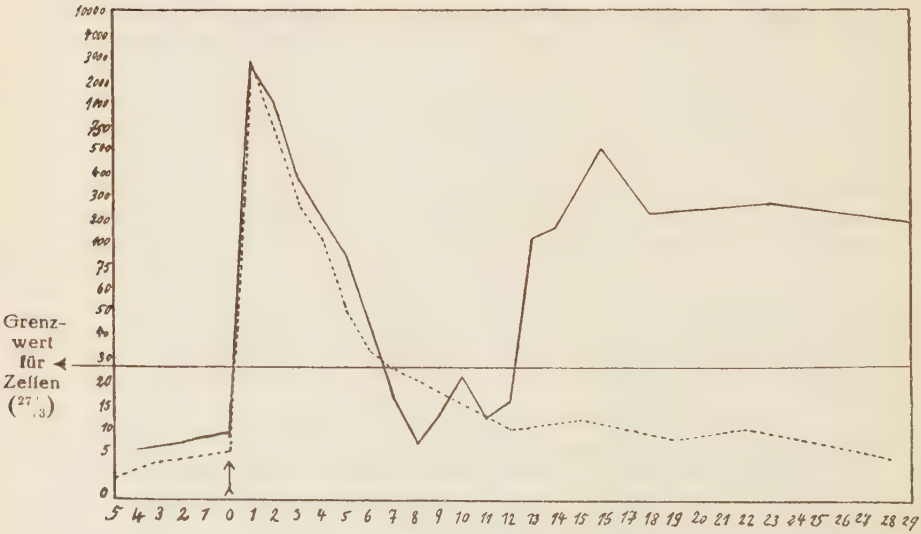
zeigte, und 5 an Kokzidiose erkrankte Kaninchen starke Veränderungen im Sinne einer Zell-, Globulin- und Gesamteiweißvermehrung erkennen.

Diese Befunde beweisen in Uebereinstimmung mit den Forderungen von Plaut (1921), sowie Illert und Jahnel (1923), daß Kaninchen vor jedem Versuch durch Kontrolluntersuchung des Liquors auf ihren Gesundheitszustand geprüft werden müssen, wenn man durchaus einwandfreie Versuchsergebnisse erzielen will.

Auf die intrazerebrale Injektion von 0,3 ccm physiologischer Kochsalzlösung, von 0,3 ccm in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmtem normalem Gehirn und in gleicher Weise von mit dem Virus der B.K. infiziertem Gehirn trat 20 Stunden nach der Jnjektion eine starke Erhöhung der Zellzahl bis zu 10000 Zellen in 3 cmm) ein, die nach 5-6 Tagen allmählich wieder die Norm erreichte. Die Zellvermehrung zeigte in der Regel nach etwa 20 Stunden ihren Höhepunkt. Die von der

Kurve 3.

Verhalten der Zellzahl im Liquor von mit Borna-Virus infizierten und mit in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmtem normalem Gehirn geimpften Kaninchen.



——— Kurve für die Zellzahl (Kaninchen Nr. 6091) i. z. mit 0,3 cm³ Borna Virus

------- Kurve für die Zellzahl (Kaninchen Nr. 6091) i. z. mit 0,3 cm³ Normalhirn geimpft.

Zeitpunkt der intrazerebralen Impfung.

20. Stunde nach der Injektion an auftretenden Zellen (vorher wurde nicht untersucht) bestehen etwa zu 45-49% aus pseudoeosinophilen Leukozyten, die sich am 2. Tag bis zu etwa 1% vermindern und am 3. Tage vollkommen verschwinden. Dagegen erhöhten sich der Globulin- und der Gesamteiweißgehalt nur geringgradig. Entsprechend geben auch die kolloidchemischen Reaktionen einen geringgradigen Ausschlag. Nach 5-6 Tagen wird der Liquor wieder normal. (Kurve 3).

Der Verlauf der Zellkurve, sowie die stürmisch auftretende und nach 2 Tagen abklingende Vermehrung der pseudoeosinophilen Leukozyten deuten im Gegensatz zu Nicolau und Kopciowski einwandfrei an, daß diese durch die intrazerebrale Injektion verursachte Liquorveränderung mit der eigentlichen Infektion nichts zu tun hat und eine Abwehrreaktion des Organismus gegenüber den injizierten Fremdkörpern (physiologische Kochsalzlösung und Gehirnbestandteile) darstellt. Wie auch Plaut (1926) ausdrücklich betont, kann man ein erneutes Ansteigen der Zellzahl erst mit völliger Sicherheit auf den infektiösen Charakter der meningealen Reizung beziehen, wenn die 2. Zellvermehrung nicht vor 6 Tagen eintritt. Dies verdient besonders betont zu werden, zumal da Nicolau und Kopciowska (1931) diese unspezifische Reaktion nach 26 Stunden auf das Herpes-Virus zurückführen.

Im Liquor von sämtlichen nach der Infektion mit Borna-Virus erkrankten Kaninchen wurde regelmäßig eine 11 bis 25 Tage nach der intrazerebralen Infektion festzustellende Zellvermehrung (38 bis 1072 Zellen in 3 cmm) nachgewiesen. Diese Zellvermehrung trat stets erst ein, nachdem der erste unmittelbar nach der Injektion sich ergebende Anstieg völlig abgeklungen war. Diese spezifische zweite Zellreaktion dauerte bis zum Tode des Tieres und war fast stets innerhalb eines Zeitraumes von 1-7 Tagen vor dem Ausbruch klinischer Krankheitserscheinungen nachweisbar.

Der Zusammensetzung nach handelt es sich bei dieser 2. Zellreaktion zu 88,05% um kleine und zu 11,95% um große Lymphozyten, vereinzelt waren auch Plasmazellen vertreten. Monozyten und polymorphkernige Leukozyten konnten mit Sicherheit nicht nachgewiesen werden. Oxydase und Peroxydaseproben fielen im Liquorausstrich und in Gehirnschnitten stets negativ aus. In den von mir untersuchten Gehirnschnitten von 129 B.K.-Kaninchen zeigten sich stets meningeale und zerebrale vaskuläre, sowie perivaskuläre Zellinfiltrate. Da die Untersuchungen von Zwick und seinen Mitarbeitern gezeigt haben, daß die Infiltratzellen beim Kaninchen in Uebereinstimmung mit den Joestschen Befunden am Pferde ausschließlich aus lymphozytären Elementen (Lymphozyten, Plasmazellen und Polyblasten) bestehen, stimmen meine Befunde an Liquorzellen mit denen in Gehirnschnitten überein.

Die Globulinreaktionen fielen im Liquor der B.K.-Kaninchen stets positiv aus: Pandy (+, ++, +++) Phase I (Nonne-Appelt), sowie Weichbrodtsche Reaktion: Opaleszenz.

Der Gesamteiweißgehalt war ebenfalls entsprechend vermehrt. Er schwankte zwischen 1,3-6,4 ‰. Der Gesamteiweiß-, sowie der Globulingehalt waren unabhängig von der Zellzahl des veränderten Liquors. Dagegen gingen die Globulin- und Gesamteiweißwerte parallel.

Die Mastix-Lumbotestreaktion lieferte mit Liquor von B.K. Kaninchen nicht immer einheitliche Kurven. Diese Reaktion ist stets abhängig von dem Globulin- und Gesamteiweißgehalt des Liquors. Bei stark positiver Pandyscher Reaktion (++, +++) ergab die Mastix-Lumbotestreaktion eine Paralysekurve. Die Paralysekurven wurden jedoch auch bei künstlich infizierten syphilitischen Kaninchen, sowie auch bei spontan encephalitisch erkrankten Kaninchen ermittelt. Die Kurve ist demnach bei den Krankheiten des Z.N.S. der Kaninchen nicht spezifisch, wie dies bei den menschlichen Erkrankungen des Z.N.S. der Fall ist (Lues-, Tabes-, Paralyse- und Meningitiskurven).

F. Schlußsätze.

1. Bei Kaninchen, die mit dem Virus der B.K. (Aufschwemmung von Gehirnsubstanz bornakranker Kaninchen) infiziert wurden, tritt vor dem Sichtbarwerden der spezifischen Krankheitserscheinungen eine Liquorveränderung im Sinne einer Erhöhung der Zellzahl und der Vermehrung des Globulin- und Gesamteiweißgehaltes auf.
2. Die unmittelbar nach der Injektion von Gehirnsubstanz sich geltendmachende Liquorreaktion ist unspezifisch, da sie auch bei intrazerebraler Impfung mit einer Aufschwemmung von normalem Kaninchengehirn, ja sogar mit physiologischer Kochsalzlösung allein hervorgerufen werden kann.
3. Die bei der unspezifischen Reaktion in Erscheinung tretenden Zellen bestehen größtenteils aus pseudoeosinophilen Leukozyten, während die der spezifischen sich hauptsächlich aus Lymphozyten und vereinzelten Plasmazellen zusammensetzen. Der letztere Zellbefund deckt sich mit demjenigen an den Infiltraten der entzündlich veränderten Gefäße des Gehirns und der Meningen.
4. Die Globulinreaktionen nach Nonne-Appelt, Pandy und Weichbrodt, ferner die Mastix-Lumbotest-Reaktion nach Emanuel-Rosenfeld haben sich bei den Liquoruntersuchungen des Kaninchens bewährt und gestatten im Zusammenhang mit der Bestimmung des Gesamteiweißgehaltes nach

der Salpetersäureschichtprobe und der Zellzählung eine scharfe Differenzierung von normalem und pathologischem Liquor.

5. Spontane Encephalitis wurde bei der Untersuchung von insgesamt 44 ungeimpften Kaninchen verschiedener Herkunft nicht festgestellt. Die Gefahr der Täuschung durch das Virus spontan erkrankter Kaninchen ist in Uebereinstimmung mit den Befunden von Zwick und Mitarbeitern gering, zumal wenn vor der Verwendung der Versuchstiere eine Liquorkontrolluntersuchung durchgeführt wird.
6. Ein an Ohrräude und 5 an Kokzidiose erkrankte Kaninchen wiesen Veränderungen des Liquors im Sinne einer Erhöhung der Zellzahl (Lymphozyten: 31 bis 74 in 3 cmm), geringe Vermehrung der Globuline und des Gesamteiweißgehaltes ($^1/_3$ ‰ bis $^2/_3$ ‰) auf.
7. Die Untersuchungsbefunde am Liquor der B.K.-Kaninchen unterscheiden sich von denen der künstlich mit Herpes-Virus infizierten Kaninchen durch völliges Fehlen der neutrophilen Leukozyten im Anfang der spezifischen Zellvermehrung und von der Reaktion bei künstlich mit Lues infizierten Kaninchen durch die geringe Zahl der Plasmazellen. Die Unterschiede sind jedoch nicht groß genug, um mit Sicherheit eine Differentialdiagnose zu gestatten. Ebenso ist es unmöglich, die Liquorreaktionen bei B.K. von denen bei spontan auftretenden Kaninchenkrankheiten zu unterscheiden.
8. Der Wert der vorliegenden Untersuchungen am Liquor von Kaninchen liegt, abgesehen von der Klärung der bei künstlich infizierten Bornakaninchen im Liquor auftretenden Veränderungen, in der Möglichkeit der Auswahl völlig einwandfreier Tiere für Versuche mit neurotropen Virusarten.

Schrifttum.

Alzheimer: Zbl. f. Nervenheilk. 1907, Jg. **30**, S. 449—456.
Bul: J. of. exp. med. 1917, Bd. **25**, S. 557.
Ellinger, R.: Tierärztl. Rdsch. 1927, Jg. **33**, S. 201—207 u. S. 247—254.
Emanuel, G.: B. kl. W. 1915, Jg. **52**, S. 792—795.
Emanuel, G. u. Rosenfeld, H.: Kli. W. 1927_1, Jg. **6**, S. 1375—1378.
Dieselben: D. m. W. 1927_2, Jg. **53**, S. 2029—2030.
Fried, S. M. und **Orlow, S. S.:** Zschr. f. d. ges. Neurol. und Pschiatr. 1928, Bd. **117**, S. 213—230.
Fuchs, A. und **Rosenthal, R.:** W. m. W. 1904, Jg. **65**, S. 2085—2087.
Grahe, K.: Zschr. f. d. ges. Neurol. und Psychiatr. 1914, Bd. **24**, S. 97.
Illert, E. und **Jahnel, F.:** Kli. W. 1923, Jg. **3**, S. 790.
Jahnel, F. und **Illert E.:** Kli. W. 1923, Jg. **2**, S. 640—641.
Jakobsthal, E.: D. m. W. 1922, Jg. **48**, S. 867.
Jakobsthal, E. und **Kafka, V.:** B. kl. W. 1918, Jg. **55**, S. 249—253.
Joest, E.: Zschr. f. Inf. Kr. d. Haustiere 1910, Bd, **9**, S. 1—98. — Kli. W. 1926, Jg. **5**, S. 209—211.
Johne, D.: Zschr. f. Tiermedizin 1897, Bd. **22**, S. 369.
Kafka, V.: Mschr. f. Psychiatr. u. Neurol. 1910, Bd. **27**, S. 414. — D. m. W. 1921, Jg. **47**, S. 1422. — Taschenbuch der praktischen Untersuchungsmethoden der Körperflüssigkeiten bei Nerven und Geisteskrankheiten, Auflage 3. Berlin 1927. — Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten 1929, Bd. **28**. — Zerebrospinalflüssigkeit (Handbuch d. biolog. Arbeitsmethoden 1930).
Kasahara, M.: Zschr. f. d. ges. Neurol. und Psychiatr. 1923, Bd **88**, S. 352—355. — Kli. W. 1923_2, Jg. **2**, S. 1889—1890.
Lange, C.: B. kl. W. 1912, Jg. **49**, S. 1304—1307.
Levaditi: Ann. Pasteur **45**, 1930.
Löwenberg, K.: M. m. W. 1926, Jg. **73**, S. 2203—2204.
Nicolau, S. und **Kopciowska, L.:** C. R. Soc. Biol. 1931_1, Bd. **106 I**, S. 1213—1216. — C. R. Soc. Biol. 1931_2, Bd. **106 II**, S. 470—472.
Nonne, M. und **Appelt:** A. f. Psychiatr. und Nervenkrankheiten 1907, Bd. **43**, S. 13.
Ostertag, B.: Anatomie und Pathologie der Spontanerkrankungen der kleinen Laboratoriumstiere, Berlin. 1931.
Oliver: J. of. inf. dis. 1922, Bd. **30**, S. 91.
Pandy: Neurol. Zbl. 1910, Bd. **29**, S. 915.
Pette, H.: D. Zschr. f. Nervenheilk. 1929, Bd. **110**, S. 221—287 — D. Zeitschr. f. Nervenheilk. 1931_1, Bd. **121**, S. 113—143; 1931_2, Bd. **121**, S. 144—164; 1931_3, Bd. **122**, S. 209—220; 1932, Bd. **124**, S. 43—143.
Pfeiffer, W.: Operationskursus, Auflage **3**, Stuttgart 1934.
Plaut, F.: Zschr. f. d. ges. Neurol. und Psychiatr. 1921. Bd. **65**, S. 373 - 391. — Zschr. f. d. ges. Neurol. und Psychiatr. 1921, Bd. **66**, S. 69—72. — in: Spezielle Pathologie des Z.N.S. der Wirbeltiere, Berlin 1927.
Plaut und Mulzer: M. m. W. 1921_1, Jg. **68**, S. 833—835; M. m. W. 1921_2, Jg. **68**, S. 1211—1213; M. m. W. 1922, Jg. 69, S. 496—498; M. m. W. 1923, Jg. **70**, S. 1401—1403;
Plaut, Mulzer u. **Neubürger:** 1922, Jg. **69**, S. 418—419.
Rauber-Kopsch: Atlas und Anatomie des Menschen, Leipzig 1923.
Rehm, O.: Kli. W. 1934, Jg. **13**, S. 173—174. — Atlas der Zerebrospinalflüssigkeit, Jena 1932.
Seifried u. **Spatz:** Zschr. f. d. ges. Neurol. und Psychiatr. 1931, Bd. **124**, S. 318—382.
Schmid, W.: Kolloidreaktionen, Berlin 1932.
Steiner, C.: D. m. W. 1913, Jg. **39**, S. 984—985.

Szécsi, St.: Zschr. f. d. ges. Neurol. und Psychiatr. 1910, Bd. **6**, S. 5. Zschr. f. d. ges. Neurol. und Psychiatr. 1012. Bd. **9**, S. 4.
Walter, K.: Die Blut-Liquorschranke, 1929, Leipzig.
Weichbrodt, R.: Mschr. f. Psychiatr. 1916, Bd. **40**, S. 349—355.
Weigeldt, W.: Studien zur Physiologie und Pathologie des Liquor zerebrospinalis, Jena, 1923.
Zaloziecki: D. Zschr. f. Nervenheilk. 1913, Bd. **47—48**, S. 783—815.
Zwick, W., Seifried, O. und Witte, J. Zschr. f. Inf. Kr. der Haustiere 1927, Bd. **30**, S. 42—130.

Meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Zwick, Direktor des Veterinärhygienischen und Tierseuchen-Instituts, möchte ich für die Ueberlassung des Themas und für die Anregungen bei meiner Arbeit meinen ergebensten Dank aussprechen.

Auch Herrn Privatdozenten Dr. Witte, der mir bei meiner Arbeit Unterstützung gewährte, möchte ich an dieser Stelle ganz besonders danken.

Ebenso gebührt mein Dank Herrn Abteilungsvorsteher Dr. Schaaf für seine stets liebenswürdigen Hilfeleistungen.

Lebenslauf.

Ich, Süleyman Zeki, wurde am 11. Januar 1907 in Instanbul geboren. Im Jahre 1927 legte ich am Lyzeum in Ankara die Reifeprüfung ab. Im Frühjahr 1928 kam ich nach Deutschland. Im Sommerhalbjahr 1929 ließ ich mich an der Veterinärmedizinischen Fakultät in Gießen als ordentlicher Studierender einschreiben. Nach 4 Semestern legte ich in Gießen im Winterhalbjahr 1930/31 die tierärztliche Vorprüfung ab. Anschließend studierte ich ein Semester in Hannover und ein Semester in Berlin an den Tierärztlichen Hochschulen und 3 Semester in Gießen an der Veterinärmedizinischen Fakultät. Im Winterhalbjahr 1933/34 bestand ich in Gießen die tierärztliche Fachprüfung. Seitdem habe ich bis zur Promotion in dem Veterinärhygienischen und Tierseuchen-Institut in Gießen gearbeitet.